

30387



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO DE CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Quimiotaxonomía del género  
*Neobuxbaumia*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS  
P R E S E N T A  
CÉSAR MATEO FLORES ORTIZ

DIRECTORA DE TESIS:  
Dra. PATRICIA DOLORES DÁVILA ARANDA

MÉXICO, D.F.

MARZO 2004



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.



## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MEXICO

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 10 de noviembre de 2003, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado del Doctorado en Ciencias del alumno(a) **César Mateo Flores Ortiz**, con número de cuenta 82057941 y número de expediente 5921037, con la tesis titulada: "Quimiotaxonomía del género *Neobuxbaumia*", bajo la dirección del (la) **Dra. Patricia Dolores Dávila Aranda**.

Presidente:	Dra. María Cristina Pérez-Amador y Barrón
Vocal:	Dr. Juan José Morrone Lupi
Vocal:	Dr. Rafael Lira Saade
Vocal:	Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo
Secretario:	Dra. Teresa Terrazas Salgado
Suplente:	Dra. Patricia Dolores Dávila Aranda
Suplente:	Dra. Helga Ochoterena Booth

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 01 de marzo de 2004

Dr. Juan J. Morrone Lupi  
Coordinador del Programa

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco la orientación constante de la Dra. Patricia D. Dávila Aranda, quien a lo largo de este trabajo encaminó el esfuerzo para hacer coincidir dos puntos de vista sobre la biología. Así mismo, agradezco a los miembros del Comité tutorial, Dra. Teresa Terrazas Salgado y Dra. María Cristina Pérez-Amador y Barrón por la asesoría recibida durante todo el desarrollo de este trabajo. A los sinodales que revisaron este trabajo, Dr. Juan José Morrone Lupi, Dr. Rafael Lira Saade, Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo y Dra. Helga Ochoterena Booth, quienes hicieron recomendaciones pertinentes para la mejora de esta tesis.

Agradezco a la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA) por el financiamiento del trabajo de investigación a través de su Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), con el No. de Proyecto IN210101, así como por la beca otorgada dentro del marco del Programa de Apoyo a la Superación de Personal Académico (PASPA). También agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de este trabajo (No. de registro 80531). Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAED 2003), por el apoyo económico recibido para la adquisición de materiales.

Agradezco a la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y a la Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (REMIB), por la información proporcionada acerca de la distribución geográfica de las especies, a través de los Nodos del Herbario XAL del Instituto de Ecología A. C. México (IE-XAL) a cargo del Dr. Francisco Lorea Hernández; Herbario IEB del Instituto de Ecología, A. C. México (IE-BAJIO) a cargo del Dr. Jerzy Rzedowski y de la Colección de Cactáceas Columnares de México (IE-Morelia, UNAM) a cargo del Dr. Ezequiel Escurra Real de Azúa.

Agradezco al Dr. Oswaldo Téllez Valdés, por el apoyo en el análisis de los datos geográficos con el programa ARC-View. También agradezco al M. en C. Isidro Méndez Larios por el apoyo en el manejo de los programas NTSYSpc 2.02i y WINCLADA 1.00.08.

Finalmente, de manera especial agradezco el apoyo técnico recibido para la colecta y procesamiento de las muestras a Luis Barbo Hernández Portilla, Josefina Vázquez Medrano, Rafael Quintanar Zúñiga, Margarita Moreno Ramírez y Martha Arcelia Urzúa Meza.

*Dedicatoria*

*Con todo mi respeto a la Memoria de*

*Carmen Ortiz González*

# INDICE

<b>CONTENIDOS</b>	<b>PAGINA</b>
<b>I.- RESUMEN</b>	<b>i</b>
<b>II ABSTRACT</b>	<b>iv</b>
<b>1.- INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2.- ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
2.1.-Filogenia de la tribu Pachycereeae	<b>3</b>
2.2.-Circunscripción del género <i>Neobuxbaumia</i>	<b>6</b>
2.3.- Estudios quimiotaxonómicos	<b>9</b>
2.4.- Estudios quimiotaxonómicos en la Familia Cactaceae	<b>10</b>
2.5.- Estudios isoenzimáticos en la Familia Cactaceae	<b>12</b>
2.6.- Alcaloides en la Familia Cactcaeae	<b>14</b>
2.7.- Alcaloides en especies del género <i>Neobuxbaumia</i>	<b>17</b>
<b>3.- HIPÓTESIS DE TRABAJO</b>	<b>20</b>
<b>4.- OBJETIVOS</b>	<b>21</b>
<b>5.- METODOLOGÍA</b>	<b>23</b>
5.1.- Colecta del material biológico y conservación de los individuos	<b>23</b>
5.1.- Análisis morfológico	<b>22</b>
5.3.- Extracción y purificación de los alcaloides	<b>24</b>
5.4.- Identificación espectroscópica de los alcaloides	<b>24</b>
5.5.- Análisis de isoenzimas	<b>25</b>
5.5.1.-Obtención de plántulas	<b>25</b>
5.5.2.- Obtención de extracto crudo	<b>25</b>
5.5.3.-Condiciones de electroforesis	<b>25</b>
5.5.4.-Revelado de isoenzimas	<b>26</b>
5.6.- Análisis fenético	<b>26</b>
5.7.- Métodos de análisis cladístico	<b>27</b>
5.8.- Selección de los taxones	<b>28</b>
5.9.- Análisis de datos de distribución geográfica	<b>29</b>
<b>6.- RESULTADOS</b>	<b>30</b>

6.1.- Colecta de muestras	30
6.2.- Distribución geográfica del género <i>Neobuxbaumia</i>	32
6.3.- Caracteres morfológicos utilizados en el estudio	35
6.4.- Caracteres de alcaloides	40
6.5.- Caracteres de isoenzimas	47
<b>7.- ESTUDIO FENÉTICO</b>	<b>51</b>
7.1.- Análisis fenético morfológico	51
7.2.- Análisis fenético de alcaloides	53
7.3.- Análisis fenético de isoenzimas	57
7.4.- Análisis fenético conjunto	60
7.5.- Discusión del estudio fenético	62
<b>8.- ESTUDIO CLADÍSTICO</b>	<b>65</b>
8.1.- Argumentación de caracteres	65
8.1.1.- Caracteres morfológicos	65
8.1.2.- Caracteres de alcaloides	68
8.1.3.- Caracteres de isoenzimas	72
8.2.- Análisis cladístico de evidencia total	72
8.3.- Discusión del estudio cladístico	75
<b>9.- CONCLUSIONES</b>	<b>81</b>
<b>10.- BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>82</b>
<b>APÉDICES</b>	
I Colectas de especies del género <i>Neobuxbaumia</i>	90
II Descripción morfológica del género <i>Neobuxbaumia</i> y sus especies	106
Descripción morfológica del género <i>Neobuxbaumia</i>	106
Características del tronco	106
Patrones y características de la ramificación	107
Características de las costillas	108
Características de las aréolas	108
Características de espinas centrales y radiales	109
Características de las flores	110

## I.- RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo la revisión de la distribución geográfica del género *Neobuxbaumia*; el análisis de los alcaloides presentes en las 9 especies que lo componen, así como la caracterización de los patrones isoenzimáticos de enzimas constitutivas que mostraron ser útiles como marcadores taxonómicos. En adición a los caracteres fitoquímicos e isoenzimáticos determinados, la información se complementó con los datos de caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos disponibles en la literatura y los que fueron obtenidos de las colectas en el campo. La generación de toda esta información se hizo con la finalidad de llevar a cabo dos estudios, uno fenético para delimitar las especies que constituyen al género y un estudio cladístico para confirmar la monofilia del género y para determinar las relaciones filogenéticas de sus especies.

La revisión de las colecciones científicas del género *Neobuxbaumia* permitió obtener información sobre 201 colectas, de las cuales 189 presentaban datos de coordenadas geográficas. Estos datos fueron analizados mediante un Sistema de Información Geográfica, obteniéndose el patrón de distribución del género. Con base en la información anterior, se planearon dos colectas en diferentes estaciones del año para cada una de las especies del género; en dichas colectas se obtuvieron las muestras para realizar los análisis de alcaloides y las semillas para llevar a cabo los estudios isoenzimáticos. Para el análisis morfológico de este trabajo, se consideró un total de 62 caracteres (32 vegetativos y 30 reproductivos), codificándolos en binarios, multiestado y de valor absoluto. Con respecto al estudio de alcaloides, anhalidina, carnegina y salsolidina fueron identificados en muestras de las especies *N. macrocephala*, *N. multiareolata*, *N. scoparia* y *N. tetetzo*. Adicionalmente, en los extractos de *Carnegiea gigantea*, se identificaron los tres alcaloides mencionados, así como gigantina y weberina. Con relación a los estudios de isoenzimas, se estudiaron las enzimas de fosfatasas, esterases y peroxidasas, con lo cual se construyó una matriz de 35 caracteres codificados en forma binaria (presencia vs ausencia). Todos los datos obtenidos en este trabajo fueron analizados mediante métodos numéricos fenéticos y por otro lado por métodos cladísticos empleando a *Stenocereus stellatus* como grupo externo.

El estudio fenético permitió establecer que en general las especies analizadas forman grupos homogéneos bien diferenciados, con lo cual se tomaron como circunscripción inicial de las especies del género *Neobuxbaumia*.

El estudio cladístico de evidencia total permitió establecer que el género *Neobuxbaumia* es un grupo monofilético, lo cual es apoyado por dos sinapomorfias de caracteres morfológicos "depresiones interareolares" y "cámara nectarial cerrada". Las relaciones filogenéticas derivadas de este análisis indican que los taxones más primitivos son *N. mezcalaensis* y *N. squamulosa*. Posteriormente se observan dos clados, el primero de ellos conteniendo a *N. sanchezmejoradae*, *N. polylopha* y *N. euphorbioides*. Por otro lado, un clado



terminal que contiene a las especies *N. multiareolata*, *N. scoparia*, *N. macrocephala* y *N. tetetzo*.

A partir de la filogenia descrita anteriormente, se observa que existe una correlación entre la distribución geográfica de las especies del género y sus relaciones filogenéticas, entre las cuales, el caso más evidente, es el de las especies *N. tetetzo* y *N. macrocephala*, las cuales, presentan una distribución cercana en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Por otro lado, el clado que forman *N. squamulosa* y *N. mezcalaensis* muestran una distribución que es sobrelapada por la amplia distribución de *N. mezcalaensis*. El esquema de relaciones fitogeográficas descrito apoya en forma general, la especiación alopátrida propuesta para este tipo de cactáceas columnares.

Con respecto a la delimitación de los géneros *Neobuxbaumia* y *Carnegiea*, se puede determinar, con base en los resultados obtenidos en este trabajo, que son dos grupos diferentes, siendo el género *Carnegiea* más emparentado con las especies del género *Pachycereus* incluidas en este trabajo.

## II. ABSTRACT

The present work describes the geographic distribution of the genus *Neobuxbaumia*; the alkaloids present in the nine species of *Neobuxbaumia*, as well as the isozymes patterns characterization that showed to be useful as taxonomic markers. In addition to the alkaloids and isozymes characters, the information was complemented with morphological data that was obtained in the field of available in literature. All this information was used to carry out two studies, one phenetic, to delimit the species and a cladistic study to confirm the monophyly of the genus and to determine the phylogenetic relationships of their species.

The revision of the scientific collections of genus *Neobuxbaumia* yielded data on 201 specimens, from which 189 presented geographical information. These data were analyzed by means of a GIS, obtaining the distribution pattern of the genus. On the basis of the previous information, two collecting trips were planned in different seasons of the year for each one of the species of the genus. Accordingly, the samples to undertake the alkaloid analyses and the seeds to carry out the isozymic studies were collected. For the morphological analysis, a total of 62 characters (32 vegetative and 30 reproductive) were considered. These characters were codified as binary, multistate and absolute values. With respect to the study of alkaloids, anhalidine, carnegine and salsolidine were identified in samples of *N. macrocephala*, *N. multiareolata*, *N. scoparia* and *N. tetetzo*. Additionally, in the extracts of *Carnegieia gigantea*, the former three alkaloids were identified, as well as gigantine and weberine. In relation to the studies of isozymes, the enzymes of phosphatases, esterases and peroxidases were studied and a matrix of 35 binary characters codified was obtained. All the data obtained in this work was analyzed by both, phenetic and cladistic methods, including for the former analysis to *Stenocereus stellatus* as out group.

The phenetic study allowed to establish that in general, the analyzed species form differentiated and homogenous groups. These groups were used for defining the initial taxonomical circumscription of the species of the genus *Neobuxbaumia*.

The total evidence cladistic study allowed confirming that the genus *Neobuxbaumia* is a monophyletic group, which is supported by two sinapomorphies of morphological characters "interareolar depressions" and "closed nectarial chamber". The phylogenetic relationships derived from this analysis indicate that *N. squamulosa* and *N. mezcalaensis* are the most primitive taxons of the group. Additionally, two other clades are observed. The first one containing *N. sanchezmejoradae*, *N. euphorbioides* and *N. polylopha*. On the other hand, two terminal clades which include the species *N. multiareolata* and *N. scoparia*, and *N. macrocephala* and *N. tetetzo*.

From the arrangement described previously, a correlation between the geographic distribution of the species of the genus and its phylogenetic relationships is observed. The most evident case is *N. tetetzo* and *N. macrocephala*, which show a

nearby distribution in the Tehuacán-Cuicatlán Valley. On the other hand, a clade formed by *N. squamulosa* and *N. mezcalaensis* shows a distribution that is overlapped by the wide distribution pattern of *N. mezcalaensis*. These phytogeographic relationships basically supports the hypothesis of an allopatric speciation in this cacti group.

With respect to the phylogenetic relationship between *Neobuxbaumia* and *Carnegiea*, the results of this work enabled to determine that they represent two different genera. In addition, it was observed that *Carnegiea* is more related to the genus *Pachycereus*, than to *Neobuxbaumia*.

## 1.- INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae es un grupo de plantas modelo para estudios de biodiversidad, conservación, genética y ecología. Estas actividades de investigación se apoyan en mayor o menor grado en estudios taxonómicos y en sistemas de clasificación filogenéticos. Por lo tanto, el conocer las relaciones filogenéticas de la familia Cactaceae permite entender mejor los mecanismos de su evolución y radiación. Sin embargo, en esta familia existe una notable complejidad taxonómica, debido a varios fenómenos biológicos como: la evolución convergente en caracteres vegetativos, la hibridación interespecífica e intergenérica, la poliploidía y los síndromes de polinización (Barthlott y Hunt, 1993; Cota, 1996). No obstante, abordar estudios filogenéticos en cactáceas es indispensable en países como México, en donde se encuentra la mayor riqueza de especies (ca. 800), además de ser el centro de diversidad para varios grupos taxonómicos, como las tribus Cacteeae, Hylocereeae y Pachycereeae (Arias, 1993).

Adicionalmente, la familia Cactaceae ha atraído el interés de estudios fitoquímicos por los niveles significativos de alcaloides, triterpenos y flavonoides que se han aislado y que potencialmente pueden ser precursores de principios terapéuticos. En particular, la presencia de alcaloides en especies miembros de la familia ha recibido atención por los usos tradicionales asociados a ritos religiosos, donde se ha relacionado la presencia de derivados de tetrahidroisoquinolinas con los efectos psicodélicos característicos. Más recientemente, se han determinado posibles efectos sobre la inhibición de la enzima monoamino-oxidasa y como consecuencia la actividad hipotensora (Tull *et al.*, 1995). En otro ámbito, se han asociado a los alcaloides presentes en cactáceas como defensas naturales para evitar la depredación por insectos parasitarios de sus tejidos, en particular, se ha reconocido su efecto sobre la respiración mitocondrial y sobre la saturación del sistema enzimático del Citocromo P-450 en insectos (Danielson *et al.*, 1994; 1997; Meyer y Fogleman, 1987). Asimismo, a través de la contribución de los estudios fitoquímicos, es posible apoyar los esquemas taxonómicos y las hipótesis de

evolución filogenética, que en el caso de la familia Cactaceae y en particular, de la tribu Pachycereeae muestran inestabilidad. En diferentes estudios filogenéticos de la tribu Pachycereeae, la presencia de alcaloides se ha considerado como sinapomorfía para la subtribu Pachycereinae (Gibson y Horak, 1978), no obstante de que no se había demostrado en todos los taxones de la subtribu la presencia de estos compuestos. Así, trabajos de filogenias realizados con base en caracteres morfológicos (Terrazas y Loza-Cornejo, 2002), han reconocido la necesidad de llevar a cabo estudios sobre la presencia de estos compuestos en especies de la subtribu Pachycereinae para complementar los estudios morfológicos realizados.

No obstante, la gran cantidad de estudios fitoquímicos realizados en especies de cactus; el género *Neobuxbaumia*, el cual es endémico de México, ha recibido escasa atención. Por ello, con el propósito de contribuir al conocimiento taxonómico de las cactáceas de México, se llevó a cabo el presente trabajo encaminado al estudio quimiotaxonómico del género *Neobuxbaumia*. En este estudio se contempló el análisis fitoquímico comparativo de los alcaloides mayoritarios de las nueve especies reconocidas para el grupo. Asimismo, se realizó la caracterización de los patrones isoenzimáticos de enzimas constitutivas que son útiles como marcadores taxonómicos. Los caracteres fitoquímicos e isoenzimáticos estudiados se complementaron con datos de caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos disponibles en la literatura y los que fueron obtenidos de las colectas en el campo. La generación de toda esta información se hizo con la finalidad de plantear una hipótesis filogenética integral del género.

## 2.- ANTECEDENTES

### 2.1.- Filogenia de la tribu Pachycereeae

Hasta la fecha, no existe una propuesta filogenética del género *Neobuxbaumia*. Sólo se disponen de propuestas hechas a nivel de la tribu Pachycereeae. Buxbaum (1958) fue el primero en proponer una hipótesis filogenética de la tribu Pachycereeae, en la cual incluyó seis géneros (Cuadro 1). Sin embargo, tres años más tarde, después de un estudio de mayor detalle de los caracteres morfológicos de las células pigmentadas en la epidermis del funículo, Buxbaum (1961), propuso una modificación drástica a su propuesta original, agrupando las especies en 13 géneros divididos en cinco subtribus: Pterocereinae, Pachycereinae, Stenocereinae, Cephalocereinae y Myrtillocactinae (Cuadro 1). Hacia 1975, Buxbaum realizó modificaciones a su propuesta anterior y reconoció sólo cuatro subtribus, incluyendo los géneros de la subtribu Cephalocereinae en la tribu Stenocereinae (Tabla 1). Posteriormente, Gibson y Horak (1978) revisaron el esquema propuesto por Buxbaum, a través de la consideración de caracteres de las semillas y de la habilidad de las especies para producir alcaloides derivados de tetrahydroisoquinolinas y triterpenos glicosídicos. Con base en esta revisión, se propuso la existencia de sólo dos subtribus: Pachycereinae y Stenocereinae. En la subtribu Stenocereinae se incluyeron aquellos géneros que presentan triterpenos glicosídicos, semillas pequeñas y cuerpos de sílice en la epidermis. Por otro lado, las especies que carecen de cuerpos de sílice y en las que se ha demostrado la presencia o, bien se presume, la presencia de alcaloides y cristales de oxalato de calcio en la epidermis, fueron agrupadas en la subtribu Pachycereinae (Cuadro 1). Los caracteres descritos por Gibson y Horak (1978) permitieron proponer como sinapomorfías la presencia de triterpenos glicosídicos y células epidérmicas perladas del funículo para la subtribu Stenocereinae y la presencia de cristales prismáticos de oxalato de calcio y de alcaloides para la subtribu Pachycereinae. Con base en estos caracteres y de su segregación en los géneros de la tribu se planteó una nueva hipótesis filogenética (Figura 1), donde se sugiere que la

especiación de este grupo de cactáceas se ajusta a un modelo alopátrico, en donde las especies que se encuentran más hacia el norte del Desierto de Sonora son los grupos más derivados y probablemente los de origen más reciente (Gibson *et al.*, 1986).

Posteriormente, se presentaron otros dos esquemas de clasificación, el primero de ellos por la IOS en 1989, donde sólo se reconocen siete géneros para toda la tribu (Hunt y Taylor, 1990) y el de Barthlott y Hunt (1993), quienes reconocen diez géneros para la tribu (Cuadro 1). Estas dos últimas propuestas de clasificación de la tribu Pachycereeae se derivan de la clasificación inicial de Britton y Rose (1919-23), y se basan en caracteres morfológicos de la flor y de la testa de las semillas; sin embargo, sus esquemas han sido discutidos por el hecho de que no aportan evidencias que soporten su propuesta (Arias *et al.*, 2003).

**Cuadro 1. Clasificaciones genéricas de la tribu Pachycereeae propuestas por diferentes autores. Tomado de Terrazas y Loza-Cornejo (2002).**

<b>Buxbaum 1958</b>	<b>Buxbaum 1961</b>	<b>Buxbaum 1975</b>	<b>Gibson y Horak 1978</b>	<b>IOS 1989</b>	<b>Barthlott y Hunt 1993</b>
<i>Carnegiea</i>	<b>Pterocereinae</b>	<b>Pterocereinae</b>	<b>Pachycereinae</b>	<i>Bergerocactus</i>	<i>Bergerocactus</i>
<i>Cephalocereus</i>	<i>Escontria</i>	<i>Escontria</i>	<i>Lophocereus</i>	<i>Pachycereus</i>	<i>Carnegiea</i>
<i>Lemaireocereus</i>	<i>Pterocereus</i>	<i>Pterocereus</i>	<i>Pachycereus</i>	<i>Carnegiea</i>	<i>Cephalocereus</i>
<i>Mitrocereus</i>	<b>Pachycereinae</b>	<b>Pachycereinae</b>	<i>Backebergia</i>	<i>Cephalocereus</i>	<i>Escontria</i>
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>Heliobravoa</i>	<i>Heliobravoa</i>	<i>Cephalocereus</i>	<i>Stenocereus</i>	<i>Myrtillocactus</i>
<i>Pachycereus</i>	<i>Pachycereus</i>	<i>Pachycereus</i>	<i>Carnegiea</i>	<i>Rathbunia</i>	<i>Neobuxbaumia</i>
	<i>Pseudomitrocereus</i>	<i>Pseudomitrocereus</i>	<i>Mitrocereus</i>	<i>Myrtillocactus</i>	<i>Pachycereus</i>
	<b>Stenocereinae</b>	<b>Stenocereinae</b>	<i>Neobuxbaumia</i>		<i>Polaskia</i>
	<i>Carnegiea</i>	<i>Carnegiea</i>	<b>Stenocereinae</b>		<i>Rathbunia</i>
	<i>Lophocereus</i>	<i>Cephalocereus</i>	<i>Stenocereus</i>		<i>Stenocereus</i>
	<i>Stenocereus</i>	<i>Lophocereus</i>	<i>Myrtillocactus</i>		
	<b>Cephalocereinae</b>	<i>Machaerocereus</i>	<i>Polaskia</i>		
	<i>Cephalocereus</i>	<i>Mitrocereus</i>	<i>Escontria</i>		
	<i>Mitrocereus</i>	<i>Neobuxbaumia</i>	<i>Anisocereus</i>		
	<i>Neobuxbaumia</i>	<i>Rathbunia</i>	<i>Pterocereus</i>		
	<b>Myrtillocactinae</b>	<i>Stenocereus</i>	<i>Lemaireocereus</i>		
	<i>Myrtillocactus</i>	<b>Myrtillocactinae</b>			
	<i>Polaskia</i>	<i>Myrtillocactus</i>			
		<i>Polaskia</i>			



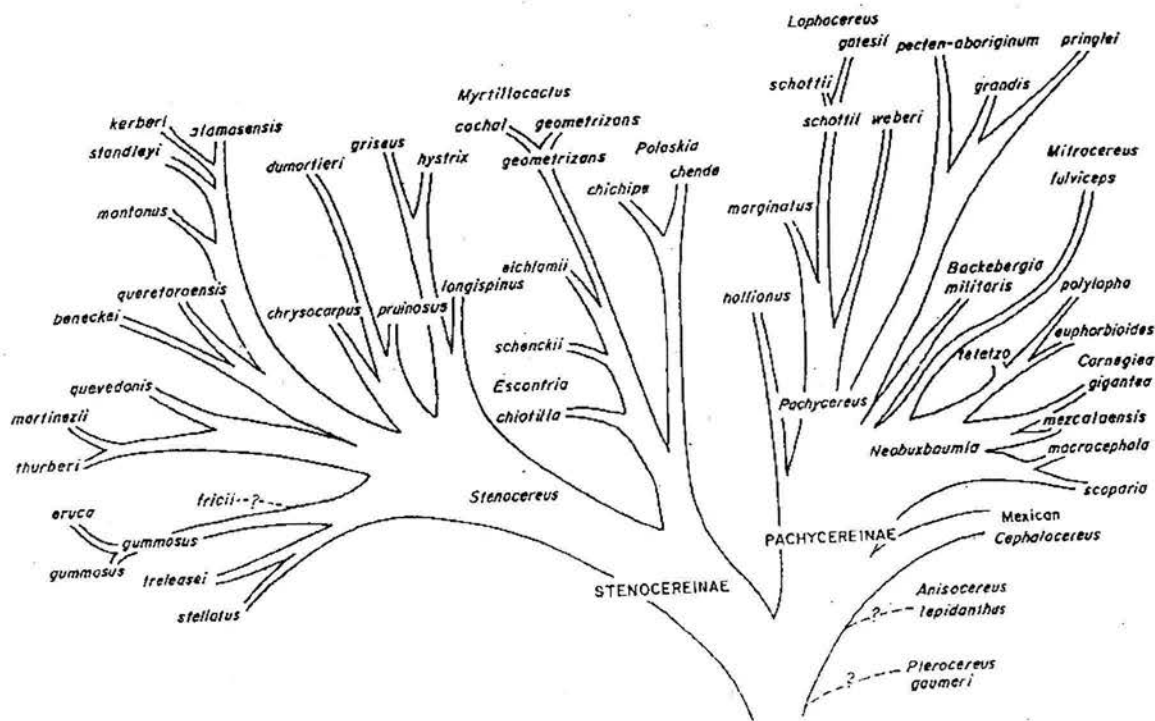
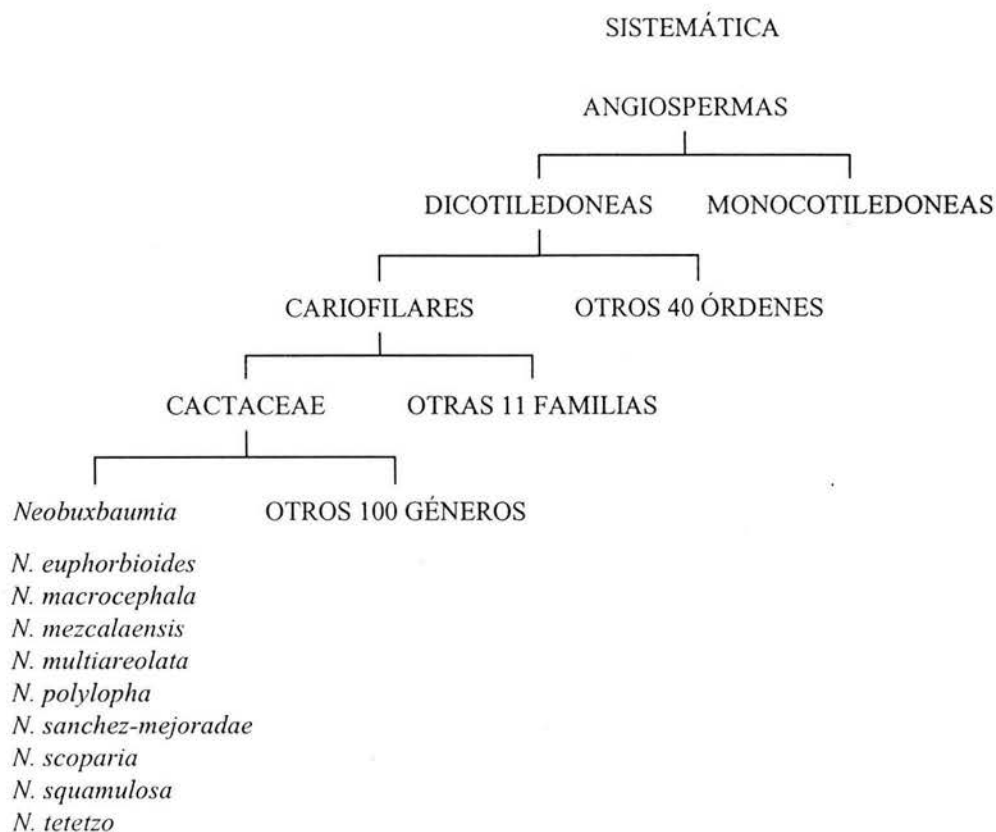


Figura 1. Hipótesis filogenética de la tribu Pachycereeae de Gibson y Horak, 1986.

## 2.2.- Circunscripción del género *Neobuxbaumia* y sus especies

El género *Neobuxbaumia* se ubica dentro de la tribu Pachycereeae, que consta de 14 géneros y 65 especies, de los cuales 13 géneros y 56 especies se encuentran en México (Gibson y Horak, 1978; Gibson, 1982). En particular, la sistemática del género *Neobuxbaumia* ha sido discutida en varios tratamientos clásicos, utilizando esencialmente caracteres morfológicos, de los cuales se desprendió una primera hipótesis sobre sus relaciones filogenéticas con otros géneros de la tribu Pachycereeae (Gibson y Horak, 1978; Gibson, 1982, 1986). Cuando Backeberg (1938) propuso el género *Neobuxbaumia*, el autor reconoció dos especies; sin embargo, en una revisión reciente (Guzmán et al., 2003) se han incluido siete más. Por su parte, Gibson y Horak (1978), al reevaluar la filogenia de la tribu Pachycereeae, consideran seis especies en *Neobuxbaumia*, tomando en cuenta

caracteres anatómicos y químicos. Sin embargo, una gran limitante en ese trabajo es la información incompleta de caracteres químicos y morfológicos sobre los taxones estudiados. Finalmente, considera a *Neobuxbaumia* como un sinónimo de *Carnegiea* amplian los límites de este género (IOS, 1989). como taxón hermano, o bien ambos representan al mismo género.



**Figura 2. Sistemática del género *Neobuxbaumia*.**

En relación a la especie *N. multiareolata*, fue considerada en inicio una variedad de *N. mezcalaensis* (Bravo, 1932), en función de que comparten gran cantidad de caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos. Posteriormente, en un estudio del género Bravo *et al.* (1972), encontraron diferencias morfológicas de la flor, fruto y semilla que ameritaron el reconocimiento a nivel específico de *N. multiareolata*. El mismo caso se presenta para *N. squamulosa*, la cual era

considerada variedad de *N. mezcalaensis* según Bravo (1978); sin embargo recientemente fue reconocida como especie válida (Guzmán et al., 2002).

Como se puede observar en el Cuadro 1, desde la definición del género *Neobuxbaumia*, éste ha sido colocado dentro de diferentes subtribus, que en su momento han demostrado ser grupos definidos artificialmente. Buxbaum (1961) coloca el género *Neobuxbaumia* dentro de la subtribu Cephalocereinae, y él mismo modifica su posición hacia 1975, colocándolo dentro de la subtribu Stenocereinae. Posteriormente, con la propuesta de Gibson y Horak (1978), es colocado dentro de la subtribu Pachycereinae. No obstante, la inestabilidad mostrada a lo largo de la definición de la tribu Pachycereeae, la IOS propone incluir las especies del género *Neobuxbaumia* dentro de *Carnegiea*, lo cual carece de soporte taxonómico suficiente (Terrazas, T. comunicación personal). Adicionalmente, considerando la propuesta de Gibson et al. (1986), quienes proponen una especiación alopátrida del grupo (donde los géneros distribuidos más al norte del país son de formación más reciente), se refuerza la propuesta contraria, donde es *Carnegiea* el género que se incluye dentro de *Neobuxbaumia*. En cualquiera de los casos, hasta el momento uno de los factores que ha limitado la unión taxonómica de estos dos géneros, es el hecho de que en *Carnegiea* se han identificado hasta el momento diez alcaloides (Mata y Mclaughlin, 1982; Pummangura et al., 1982; Ordaz et al., 1983), mientras que en las especies del género *Neobuxbaumia*, de cuatro especies estudiadas, *N. macrocephala*, *N. mezcalaensis*, *N. polylopha* y *N. tetetzo*, sólo se han aislado trazas de heliamina en *N. mezcalaensis*. (Gibson et al., 1986). No obstante los resultados reportados, hay que considerar que como lo mencionan Gibson et al. (1978), los extractos y las identificaciones fueron realizadas en el campo, lo cual necesariamente representa limitaciones instrumentales y de detección. Además, sólo se dispone de análisis de alcaloides de cuatro de las nueve especies del género.

En consideración al problema de delimitación del género *Neobuxbaumia* descrito arriba, se hace evidente la necesidad de llevar a cabo el estudio de las especies

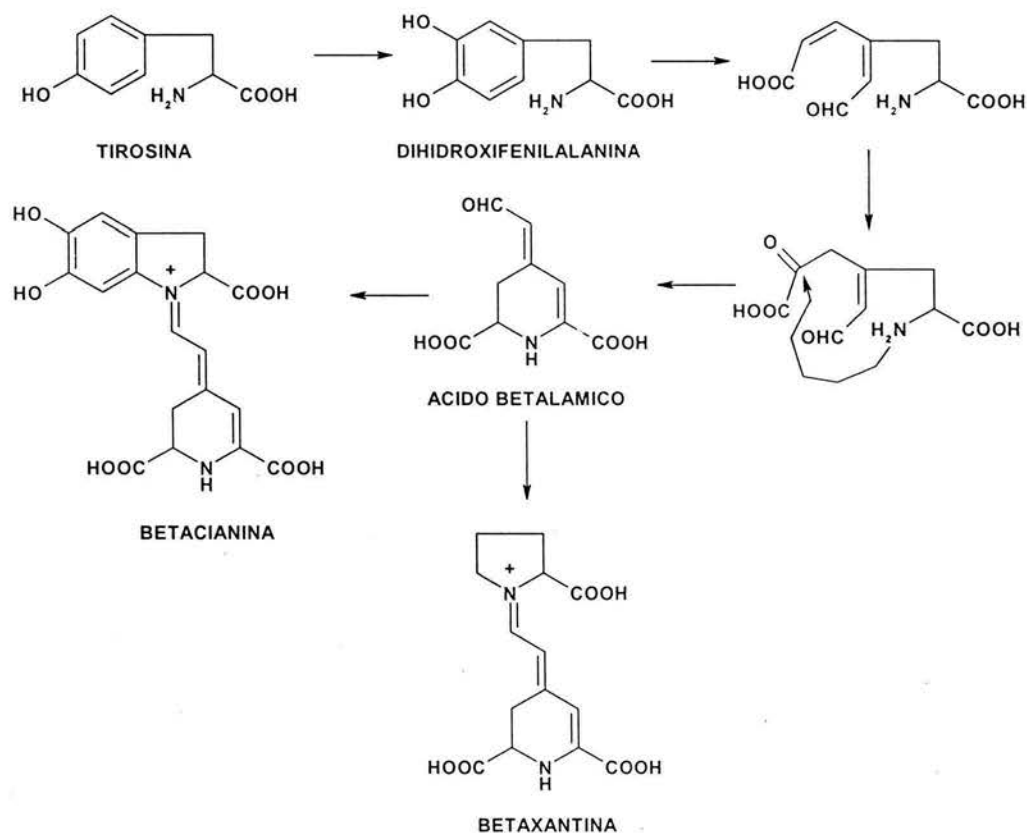
del género, a través de un estudio quimiotaxonómico que complemente las descripciones morfológicas que están actualmente disponibles (Terrazas y Loza-Cornejo, 2002), de tal forma que se pueda comprobar o refutar la hipótesis de Gibson y Horak sobre la sinapomorfía de los alcaloides en la subtribu Pachycereinae, así como contribuir al entendimiento de las relaciones filogenéticas del género *Neobuxbaumia* y de sus especies. Para llevar a cabo este objetivo, se planteó el siguiente esquema de trabajo: Inicialmente se realizó un estudio fenético con el objeto de establecer la circunscripción de las especies para tomarlas como grupos de trabajo y posteriormente se llevó a cabo un estudio cladístico de los caracteres para determinar la monofilia del género y reconocer las relaciones filogenéticas de las especies.

### **2.3.- Estudios quimiotaxonómicos**

El enfoque químico en la clasificación de las especies ofrece ventajas y desventajas conceptuales y experimentales, respecto a los enfoques morfológicos. Entre las limitaciones más críticas de los estudios quimiotaxonómicos están las variaciones asociadas a factores medioambientales, ontológicos y en diferentes órganos, la gran cantidad de tiempo requerido para el análisis de las muestras, la necesidad de una infraestructura instrumental de alto costo y la incapacidad de estudiar especímenes fósiles. No obstante estas limitaciones, se presentan ventajas valiosas; como una caracterización cualitativa y cuantitativa exacta del carácter, la descripción experimental de la ruta de biogénesis del carácter, el reconocimiento de sus posibles implicaciones fisiológicas y ecológicas, la discriminación de especies en cualquier etapa del desarrollo y, el establecimiento de los estados de carácter. En consideración de lo anterior, los enfoques morfológicos y químicos en la taxonomía, lejos de ser excluyentes, pueden complementarse para ofrecer un esquema más sólido de la clasificación y de las relaciones evolutivas de un grupo taxonómico.

## 2.4.- Estudios quimiotaconómicos en la familia Cactaceae

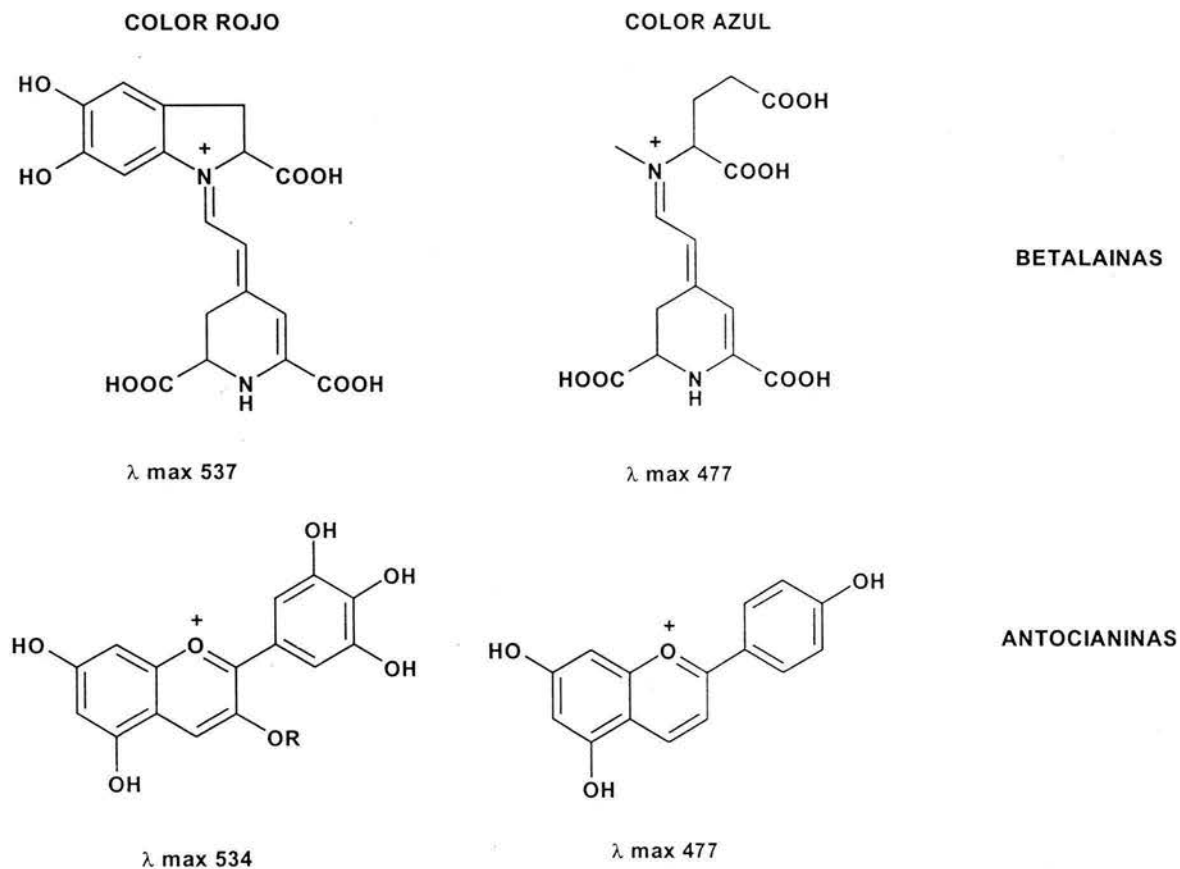
Probablemente, el grupo de metabolitos secundarios que mayor impacto ha tenido en el análisis quimiotaconómico a nivel de orden y familia, y particularmente en Cactaceae, es el de las betalaminas, las cuales restringen su presencia a un grupo de familias pertenecientes al orden Caryophyllales. Como se muestra en la Figura 3, se ha propuesto que el precursor de las betalaminas es la tirosina (Piattelli, 1981), la cual después de una hidroxilación, forma dihidroxifenilalanina y a través de la oxidación del anillo catecólico, y su posterior rearreglo, forma el intermediario ácido betalámico, que a su vez, puede condensarse con otra dihidroxifenilalanina para formar betacianina o bien con algún aminoácido para formar betaxantina.



**Figura 3. Biogénesis de betacianinas y betaxantinas**

Este tipo de pigmentos se acumulan principalmente en flores y frutos, y se ha propuesto que atraen a polinizadores y dispersores de semillas (Mabry, 1977); ya que absorben luz en el espectro visible a semejanza de sus análogos antocianinas

en 537 y 477nm (Figura 4). Estos compuestos también se han asociado con funciones de repelentes y agentes fungicidas.



**Figura 4. Equivalencias de cromoforos entre betalainas y antocianinas**

No obstante que la ruta de biogénesis de las antocianinas está bloqueada en las especies de la familia Cactaceae, existen reportes sobre la presencia de flavonoides en especies de la familia, principalmente formando parte de los pigmentos florales, como es el caso de la 3-O-metilquercetina, descrita en tépalos de *Neoporteria* y *Parodia* (Iwashina *et al.*, 1984). Adicionalmente, la presencia de flavonas, dihidroflavonas, y sus glucósidos correspondientes ha sido determinada en 14 especies del género *Echinocereus* (Miller, 1988). El patrón de distribución de polifenoles encontrado en este género, permitió el establecimiento de un

esquema filogenético para el grupo, discutiendo además la selección de estos caracteres como factores de adaptación a niveles elevados de irradiación.

La presencia de terpenos en la familia Cactaceae, ha sido demostrada (Domínguez y Domínguez, 1976), registrándose la existencia de triterpenoides, como alcoholes y ácidos triterpénicos, también unidos a carbohidratos formando saponinas. Por otro lado, alcaloides derivados de  $\beta$ -fenetilaminas y tetrahidrósioquinolinas aislados de cactáceas, han mostrado tener valor en los estudios quimiotaxonómicos a nivel de género (Starha *et al.*, 1997). Además, la determinación del tipo de ceras epidérmicas fue utilizada en la elaboración de una propuesta quimiotaxonómica en las subfamilias Opuntioideae y Cactoideae (Maffei *et al.*, 1997).

Con respecto a los extractos obtenidos de especies de la familia Cactaceae, se ha estudiado la composición del néctar extrafloral en el género *Ferocactus* (Ruffner y Clark, 1986), encontrando un patrón característico de composición predominante de glucosa y la presencia de los 20 aminoácidos protéicos, los cuales varían de acuerdo a los cursos estacionales y también se ha determinado la composición del néctar de especies de la tribu Pachycereeae encontrando que se presentan niveles elevados de monosacáridos (Santos, 2002).

## **2.5.- Estudios isoenzimáticos en la Familia Cactaceae**

Con relación a los estudios quimiotaxonómicos a nivel de isoenzimas en la familia Cactaceae, se han determinado los patrones de isoenzimas constitutivas e inducibles en *Cereus peruvianus*, mediante tratamientos con reguladores del crecimiento (Machado *et al.*, 1993; Mangolin *et al.*, 1994; Torquato *et al.*, 1995). Estos estudios han demostrado que las isoenzimas de alcohol deshidrogenasa y malato deshidrogenasa mitocondrial, se expresan diferencialmente de acuerdo a las condiciones de crecimiento y a la edad del tejido, por tanto, no son útiles como marcadores taxonómicos. Otros estudios en la misma especie (Mangolin *et al.*,

1994b), encontraron que las isoenzimas de fosfatasa ácida, peroxidasa y esterasas, se mantienen constantes a través del tiempo y son independientes de los tratamientos experimentales, por lo cual, son útiles como marcadores quimiotaxonómicos. Adicionalmente, en frutos de *Opuntia ficus-indica*, se reportó la actividad constante de peroxidasa (Padiglia *et al.*, 1995). Otros estudios en proteínas de semillas en nueve especies de cactáceas mostraron ser de utilidad para complementar los esquemas taxonómicos de los géneros estudiados (Carreras *et al.*, 1997).

Por otro lado, se han determinado las relaciones quimiotaxonómicas a nivel metabólico en las familias pertenecientes al orden Caryophyllales. Como se muestra en el Cuadro 2, la ruta fotosintética principal en el grupo es C4, ya que cerca del 85% de las especies pertenecientes al orden presentan esa modalidad, y solamente en la familia Cactaceae todos los géneros tienen metabolismo MAC (Mabry, 1977).

**Cuadro 2. Tipos de fotosíntesis en familias del orden Caryophyllales**

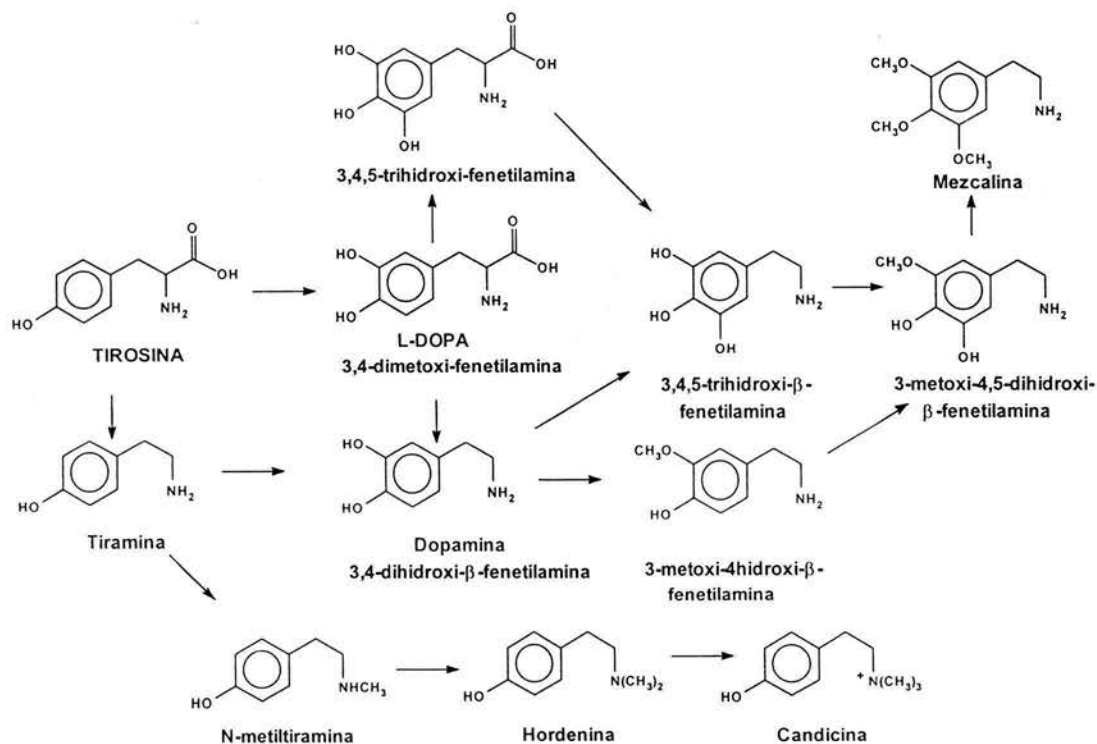
<b>Suborden Chenopodiieae</b>		<b>Suborden Caryophyllineae</b>	
<b>(Familias con betalaninas)</b>		<b>(Familias con antocianinas)</b>	
Aizoaceae	C4, MAC	Caryophyllaceae	C4
Sesuviaeae	C4	Lichnideae	C3
Giseliaceae	C4	Polycarpeae	C4
Tetragoniaceae	C3	Paronychieae	C3
Amaranthaceae	C4	Alsineae	C3
Basellaceae	C3	Sperguleae	C3
Cactaceae	MAC	Molluginaceae	C4
Chenopodiaceae	C4		
Dysphaniaceae	C3		
Nyctaginaceae	C4		
Phytolaccaceae	C3		
Achatocarpaceae	C3		
Agdestidaceae	C3		
Petiveriaceae	C3		
Stegnopermaceae	C3		
Portulacaceae	C4		



En relación con los estudios genéticos realizados en la familia Cactaceae, se ha propuesto que la poliploidía, hibridación y rearreglo cromosómico, son las causas principales de especiación en el género *Echinocereus* (Cota y Philbrick, 1994). Por otra parte, utilizando secuencias de ADN ribosomal, así como la morfología y ADN de cloroplasto, se estableció la relación filogenética estrecha de las familias Cactaceae y Portulacaceae (Hershkovits y Zimer, 1997). Finalmente, se han usado caracteres moleculares para algunos grupos de cactáceas que permiten reconocer su utilidad en la reconstrucción de filogenias, en particular para *Ferocactus* (Cota y Wallace, 1997), *Pachycereus* (Arias *et al.*, 2003) y, en general, para las cactáceas (Wallace, 1995).

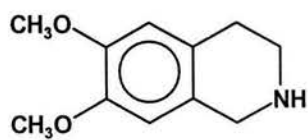
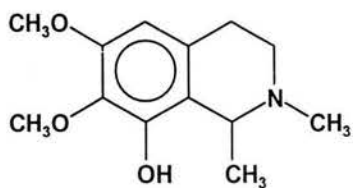
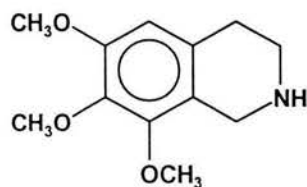
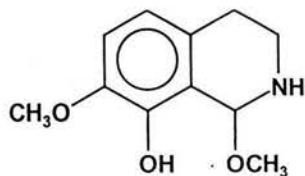
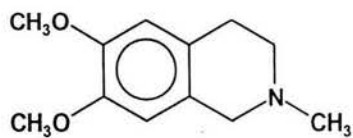
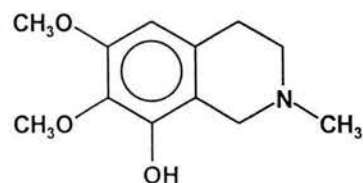
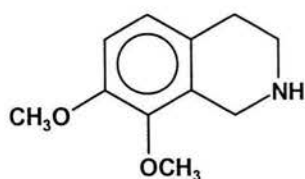
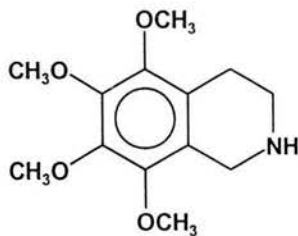
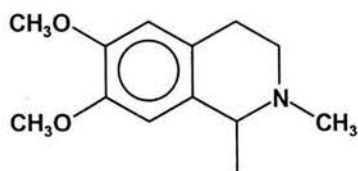
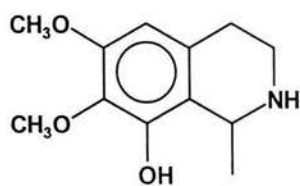
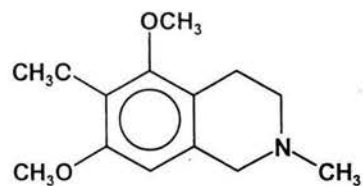
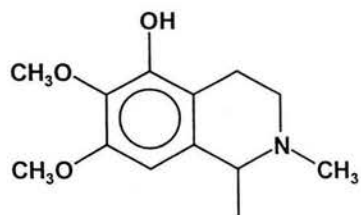
## **2.6.- Alcaloides en la familia Cactaceae**

Mata y McLaughlin (1982), hacen una excelente compilación de los alcaloides aislados de cactáceas hasta ese momento. En este trabajo se señala que los alcaloides más comunes encontrados en cactáceas, son aquellos derivados de la tirosina, los cuales tienen en común una hidroxilación en la posición C-4 del anillo aromático. Adicionalmente, se pueden presentar hidroxilaciones en las posiciones C-3 y C-5 del anillo aromático, con las correspondientes metilaciones. Para el modelo descrito, se presentan dos grandes grupos de alcaloides, las  $\beta$ -fenetilaminas y las tetrahidroisoquinolinas. En los primeros se pueden presentar funcionalidades químicas en la posición C-2 de la cadena lateral y el amino terminal puede encontrarse en forma de amina primaria, secundaria, terciaria o cuaternaria. En la Figura 5 se muestra una relación biosintética para el grupo de  $\beta$ -fenetilaminas (Gibson y Nobel, 1986).



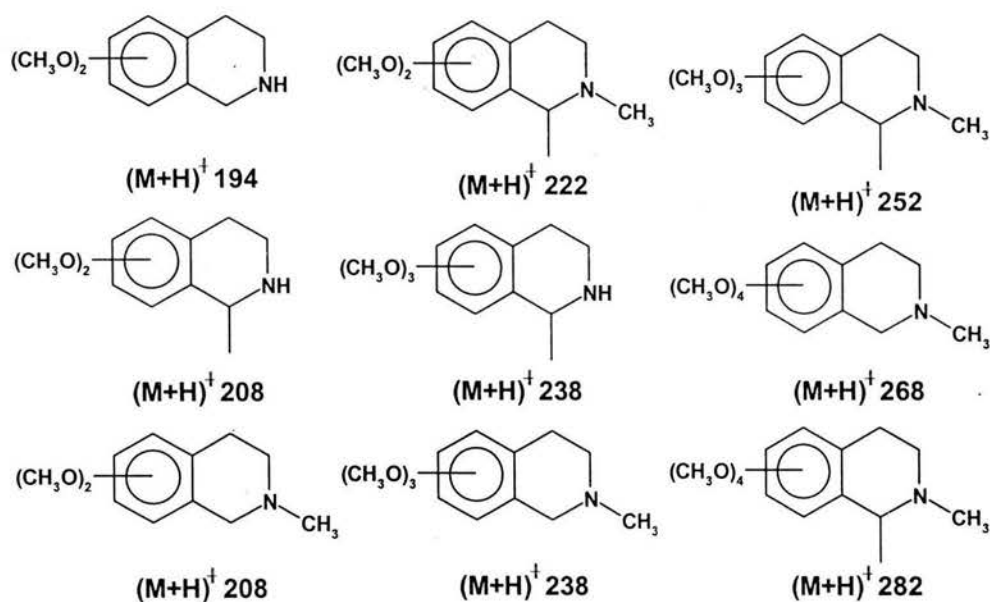
**Figura 5 Relación biosintética de β-fenetilaminas**

Por su parte, las tetrahydroisoquinolinas se producen cuando las dimetoxi y las trimetoxifenetilaminas aceptan un carbón adicional, incorporando el nitrógeno en un nuevo anillo. La mayoría de las tetrahydroisoquinolinas reportadas se han aislado del género *Lophophora*, no obstante, hasta 1985, se habían extraído 26 tetrahydroisoquinolinas de especies de la subtribu Pachycereinae. En general, estas tetrahydroisoquinolinas muestran una hidroxilación en la posición C-4 del anillo aromático y adicionalmente, hidroxilaciones o metoxilaciones en las posiciones C-3 y C-5. Asimismo, se ha encontrado que pueden formar dímeros y trímeros. En la Figura 6 se muestran algunas de las tetrahydroisoquinolinas caracterizadas en la subtribu Pachycereinae.

**Heliamina****Pellotina****Anhalinina****Arizonina****N-metilheliamina****Anhalidina****Lemaireocerina****Weberina****Lofoserina****Carnegina****Anhalonidina****Tehuanina****Gigantina****Figura 6. Tetrahidroisoquinolinas identificadas en la subtribu Pachycereinae**

## 2.7.- Alcaloides en especies del género *Neobuxbaumia*

No obstante la abundante información generada sobre la presencia de alcaloides en especies de la familia Cactaceae, el género *Neobuxbaumia* ha quedado al margen de este esfuerzo, ya que, de las nueve especies reconocidas para este género, solamente se han realizado estudios fitoquímicos en cuatro de ellas. En *Neobuxbaumia* sp., Domínguez *et al.* (1969), reportan la ausencia de alcaloides en la especie, posteriormente, Unger *et al.* (1980), mediante la técnica de MIKES, no encuentran en *N. euphorbioides* ninguno de los iones provenientes de las nueve tetrahydroisoquinolinas contenidas en la Figura 7.

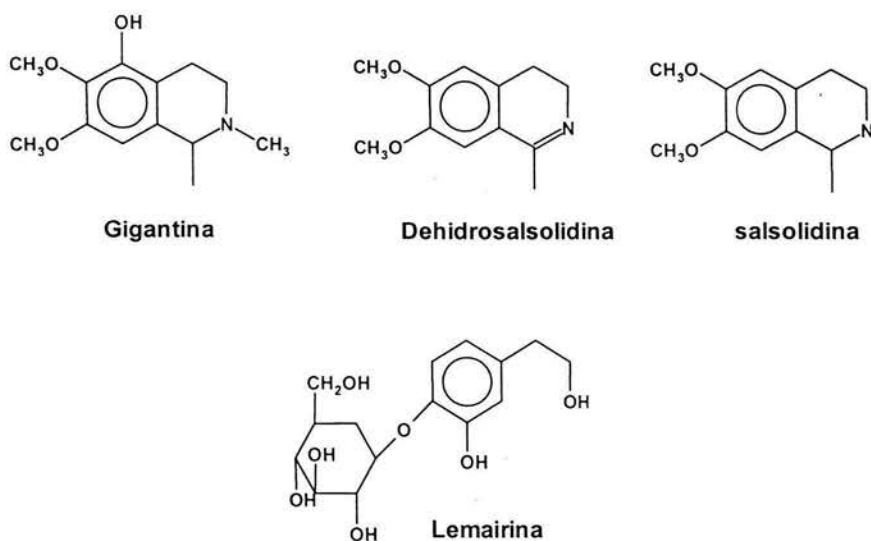


**Figura 7. Tetrahydroisoquinolinas no encontradas en *N. euphorbioides* mediante la técnica de MIKES**

Por otro lado, un estudio cualitativo de alcaloides hecho en cuatro especies del género (*N. macrocephala*, *N. mezcalaensis*, *N. polylopha*, y *N. tetetzo*), permitió determinar que sólo en *N. mezcalaensis* se encuentran trazas del alcaloide heliamina (Gibson *et al.*, 1986).

El grupo más emparentado con *Neobuxbaumia* que ha sido ampliamente estudiado con respecto al contenido de alcaloides, es el género monotípico *Carnegiea* (Mata y McLaughlin, 1982), del cual se aislaron los alcaloides carnegina, gigantina, salsolidina, 3-metoxitiramina, 3,4-dimetoxifenetilamina, arizonina, weberina y dopamina (Figura 7). Posteriormente, en este mismo género, se reconocieron cantidades traza de alcaloides como dehidro-salsolidina y heliamina (Pummangura *et al.*, 1982), así como dehidroheliamina (Ordaz *et al.*, 1983), de las cuales, se discute su posible participación como precursores de las formas tetrahidroisoquinolinas.

Otra especie emparentada con el género *Neobuxbaumia* donde se han hecho estudios fitoquímicos, es *Pachycereus pringlei*, donde se reporta la cristalización de tehuana y heliamina, así como trazas de lemaireocereína y weberina (Mata y McLaughlin, 1980a). Por otra parte, en *Pachycereus weberi* se aislaron ocho tetrahidroisoquinolinas (Mata y McLaughlin, 1980b), así como un glucósido de fenol lemairina, el cual es responsable de la coloración oscura que adquiere el tejido después de un daño (Mata y MacLaughlin, 1980b). En *Backebergia militaris* (Mata y McLaughlin, 1976), también fue aislada heliamina y 3,4-dimetoxi- $\beta$ -fenetilamina (Figura 8).



**Figura 8. Alcaloides de especies emparentadas con el género *Neobuxbaumia***

Como es evidente, la familia Cactaceae es un grupo taxonómico productor de alcaloides, y en particular, en los géneros pertenecientes a la subtribu Pachycereinae, donde se han aislado diferentes derivados de tetrahidroisoquinolinas. No obstante lo anterior, el género *Neobuxbaumia*, perteneciente a esta subtribu, no ha sido caracterizado totalmente.

### 3.- HIPÓTESIS DE TRABAJO

El género *Neobuxbaumia* pertenece a la subtribu Pachycereinae, donde se ha demostrado la presencia de tetrahydroisoquinolinas en varios de los géneros que la componen. Adicionalmente, con base en diferentes tipos de información para los géneros de esta subtribu, se ha planteado que la especiación de este tipo de cactáceas se ajusta a un modelo alopátrico, en donde las especies que se encuentran más hacia el norte del Desierto de Sonora son los grupos más derivados y probablemente los de origen más reciente. En consideración de lo anterior, se espera que las especies del género *Neobuxbaumia* contengan tetrahydroisoquinolinas en sus tejidos y que la inspección de éstos permita hacer una propuesta sobre la filogenia del grupo, en la cual se espera que se ajuste al modelo alopátrico propuesto, en el cual las especies de distribución más al sur de territorio sean basales en la evolución del género y las de distribución más hacia el norte sean las de más reciente formación.

#### 4.- OBJETIVOS

Determinar la filogenia del género *Neobuxbaumia*, con base en la caracterización de sus alcaloides, isoenzimas y morfología.

En torno al objetivo general planteado, se definieron los siguientes objetivos particulares:

- Revisar la distribución geográfica de las especies del género *Neobuxbaumia*.
- Revisar los caracteres morfológicos que describen las especies del género *Neobuxbaumia*.
- Analizar la distribución y estructura de los alcaloides y los patrones isoenzimáticos en las especies del género *Neobuxbaumia*.
- Llevar a cabo un estudio fenético para determinar la circunscripción de las especies.
- Realizar un estudio cladístico para determinar las relaciones filogenéticas del género *Neobuxbaumia* y sus especies.

Para llevar a cabo los objetivos planteados, se definieron las siguientes metas:

1. Colecta de materiales vegetales de cada especie del género *Neobuxbaumia* y los grupos hermanos *Cephalocereus columna-trajani*, *Pachycereus hollianus*, *Pachycereus weberi*, *Carnegiea gigantea* y el grupo externo *Stenocereus stellatus*.
2. Estudio de los caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos de cada especie.
3. Aislamiento, purificación e identificación espectroscópica de los componentes alcaloideos mayoritarios de especímenes representativos de cada especie.
4. Definición de los perfiles cualitativos y cuantitativos de los alcaloides identificados para cada especie.



5. Desarrollo de estudios de isoenzimas para identificar cuáles son constitutivas.
6. Definición de los perfiles cualitativos y cuantitativos de los patrones isoenzimáticos de cada especie.
7. Análisis fenético utilizando la información de los diferentes tipos de caracteres, con el fin de reconocer los límites taxonómicos de las especies de *Neobuxbaumia*.
8. Análisis cladístico de *Neobuxbaumia* con el fin de reconocer las relaciones filogenéticas del género y sus especies.
9. Presentación de la propuesta filogenética de *Neobuxbaumia*, incorporando datos sobre la distribución geográfica de las especies.

## 5.- METODOLOGÍA

### 5.1.- Colecta del material biológico y conservación de organismos

Para la caracterización de los alcaloides de las especies de *Neobuxbaumia*, se colectaron muestras de 10 kg de peso fresco de tallos tomados a partir del ápice. La parte más apical de la muestra fue herborizada para su incorporación al herbario de la FES-Iztacala (IZTA). Para los estudios de patrones isoenzimáticos, se colectaron frutos maduros, de los cuales se obtuvieron semillas para germinarlas y obtener los extractos de tejidos frescos. Los tamaños de las muestras en la colecta de los frutos fueron definidos siguiendo las recomendaciones hechas por Ruiz *et al.* (1982). Los lugares de colecta fueron establecidos de acuerdo con las localidades donde se ha descrito la distribución de cada especie (Apéndice I).

Con la finalidad de evitar daños irreversibles en los individuos que fueron colectados durante la toma de los fragmentos de los tallos, se observaron las recomendaciones generales que se reconocen como las más convenientes para evitar infestaciones por microorganismos, hongos y bacterias en las prácticas de propagación por injertos y por esquejes en cactáceas (Reyes, 1997)

### 5.2.- Análisis morfológico

Para el análisis morfológico de los caracteres vegetativos y reproductivos, inicialmente se construyó una matriz de caracteres con base en la revisión de caracteres morfológicos de la tribu Pachycereeae (Terrazas y Loza-Cornejo, 2002; Arias, 2002; Bravo, 1978). Posteriormente, se identificaron los estados de carácter para todas las especies en estudio, tomando como fuente de información los individuos revisados en las localidades de colecta y la información bibliográfica disponible. Los detalles acerca de los caracteres y sus estados de carácter se muestran en los resultados.

### **5.3.- Extracción y purificación de los alcaloides**

Para la extracción de los alcaloides, se siguió la técnica de rutina de separación ácido-básica (Aguirell, 1969). El tejido fresco obtenido de las colectas fue liofilizado hasta obtener peso constante. Posteriormente, 500 g de material previamente liofilizado, fueron homogenizados en 2.5 volúmenes de metanol, dejándose en reposo durante toda la noche, protegidos en atmósfera de nitrógeno. El extracto metanólico se evaporó a temperatura baja y el residuo fue resuspendido en 50 ml de solución 0.1N de HCl y se realizó una extracción con 50 ml de  $\text{CHCl}_3$ . El extracto clorofórmico fue desechado y la fase acuosa fue basificada con hidróxido de amonio a pH 8. Posteriormente, se realizó una extracción con  $\text{CHCl}_3$  y con una mezcla de  $\text{CHCl}_3$ -etanol (3:1). La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro y evaporada a sequedad a baja temperatura. De la forma anterior se obtuvo la fracción alcaloidea cruda, la cual fue analizada cualitativamente en su contenido de alcaloides totales, mediante la reacción de Dragendorff (Raffauf, 1996). La fracción alcaloidea fue purificada mediante cromatografía en placa fina preparativa, siguiendo las recomendaciones de Fong y Farnsworth (1969).

### **5.4.- Identificación espectroscópica de los alcaloides**

Para la identificación química de los alcaloides de cada especie se utilizaron técnicas espectroscópicas de rutina, como ultravioleta visible y análisis del patrón de fragmentación del espectro de masas. Las asignaciones de las señales en las espectroscopías empleadas, se realizaron de acuerdo a la teoría correspondiente para cada técnica, y en los casos donde fue posible, fueron confirmadas mediante la comparación de las constantes espectroscópicas de patrones puros (Rahman, 1994), y de la colección de espectros de NIST.

## **5.5.- Análisis de isoenzimas**

### **5.5.1.- Obtención de plántulas**

Para el estudio isoenzimático se obtuvieron plántulas a partir de la germinación de semillas de frutos maduros bajo condiciones controladas. Las semillas de cada especie fueron hidratadas durante 24 h en oscuridad, posteriormente fueron sembradas en un recipiente con sustrato hidratado al 100%. Las cajas se colocaron en una cámara de condiciones controladas: Temperatura 28°C, Humedad Relativa 65%, Fotoperíodo de 12 h de luz. Periódicamente, las cajas con plántulas fueron hidratadas, hasta cumplir 6 meses de edad.

### **5.5.2.- Obtención de extracto crudo**

Las plántulas obtenidas se homogenizaron a 4°C, con dos volúmenes de buffer Tris-HCl 50 mM pH 7.3, conteniendo polivinilpirrolidona (PVP) al 0.1%. El homogenizado se centrifugó a 18000 x *g* durante 10 minutos a 4° C; posteriormente, se recuperó el sobrenadante, al cual se le determinó el contenido de proteínas totales por el método de Bradford, utilizando albúmina de suero bovino como estándar (Bradford, 1976).

### **5.5.3.- Condiciones de electroforesis**

El análisis de isoenzimas se llevó a cabo en un equipo MINIPROTEAN III (Bio-Rad), empleando geles en placa de poliacrilamida en un sistema discontinuo de concentración hasta el 12% (Laemli, 1970). Las muestras de los extractos de cada especie fueron sembradas por triplicado, ajustando la cantidad de proteína a 15 µg por poza. La electroforesis se llevó a cabo en condiciones de corriente constante a 250 V, 50 mA por una hora en buffer Tris-HCl 2.48 mM y glicina 19.2 mM pH 8.3. El desarrollo de la electroforesis fue detenido cuando el frente del indicador de azul de bromofenol llegó a la parte más inferior del gel.

#### 5.5.4.- Revelado de Isoenzimas

**Peroxidasas.** Para obtener el patrón isoenzimático de peroxidasas se realizó el revelado con una solución que contenía bencidina (4, 4'-Diaminobifenil) 3.8 mM , H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 45 mM y en acetato de sodio 100 mM pH 4.8, durante 15 min (Tanksley y Orton, 1983).

**Esterasas.** Para el estudio de las isoenzimas de esterazas, se incubaron los geles en Buffer de fosfato de sodio 100 mM pH 6.2, conteniendo naftilacetato al 1% disuelto en acetona y Azul Rápido al 0.1%, durante 15 min en agitación y oscuridad (Tanksley y Orton, 1983).

**Fosfatasas:** Para el estudio de las isoenzimas de fosfatasas, se revelaron incubando los geles en un buffer de acetato de sodio 50 mM pH 5.5, cloruro de magnesio 10 mM, ácido  $\alpha$ -naftilfosfato al 1% y Fast Garnet al 0.1%, durante 15 min en oscuridad (Tanksley y Orton, 1983).

#### 5.6.- Métodos de análisis fenético

Con la información obtenida del estudio de caracteres morfológicos, de alcaloides e isoenzimas, se construyeron matrices de caracteres codificados como presencia-ausencia o de valor absoluto. Las matrices obtenidas fueron analizadas mediante el programa de análisis numérico NTSYSpc 2.02i, generando la matriz de similitud a través del Índice de Jaccard cuando los caracteres eran codificados en forma de presencia ausencia (Sneath y Sokal, 1973). Por otro lado, para eliminar los efectos provocados por diferentes escalas de caracteres de valor absoluto, se realizó una estandarización de los valores a través del procedimiento de transformación lineal (Crisci y López, 1983), de esta forma se obtuvieron las tablas de valores estandarizados, las cuales fueron utilizadas para el cálculo de los coeficientes de similitud empleando el índice de correlación.

Las matrices de similitud obtenidas fueron utilizadas para realizar el agrupamiento de los taxones utilizando el algoritmo de UPGMA.

### **5.7.- Métodos de análisis cladístico**

El trabajo cladístico se llevó a cabo a través de los procesos básicos de exploración y selección de caracteres, codificación de caracteres y análisis para generar los cladogramas más parsimoniosos (Kitching *et al.*, 1998; Poe y Wiens, 2000). En el estudio cladístico se emplearon caracteres morfológicos, de alcaloides e isoenzimáticos. En la parte de estudio cladístico se presenta la argumentación correspondiente para cada tipo de caracteres mediante la cual fueron codificados. El análisis cladístico se llevó utilizando el algoritmo de parsimonia mediante el programa WINCLADA 1.00.08 (Nixon, 2002) y NONA Versión 2 (Goloboff, 1999). Se realizó una búsqueda heurística de 1000 replicas, intercambiando ramas mediante TBR. El cladograma resultante fue optimizado para caracteres sin ambigüedades y los clados no soportados se mostraron colapsados. Adicionalmente se llevó a cabo la prueba de confianza de bootstrap con intercambio de ramas mediante TBR y con 10,000 replicas.

## 5.8.- Selección de los taxones

Los taxa seleccionados para este análisis incluyen las nueve especies reconocidas para el género *Neobuxbaumia*, (Guzman *et al.*, 2002), más cuatro especies de la subtribu Pachycereinae, *Carnegiea gigantea*, *Pachycereus fulviceps*, *Pachycereus hollianus* y *Pachycereus weberi* que, en conjunto, conforman al grupo interno. Además se incluye una especie de la subtribu Stenocereinae, *Stenocereus stellatus*, la cual fue seleccionada como grupo externo con base a las evidencias morfológicas y moleculares (Cornejo y Simpson, 1997; Cota y Wallace, 1997; Gibson y Horak, 1978; Terrazas y Loza-Cornejo, 2002; Arias *et al.*, 2003).

### Grupo interno

*Neobuxbaumia euphorbioides*

*N. macrocephala*

*N. mezcalaensis*

*N. multiareolata*

*N. polylopha*

*N. sanchezmejoradae*

*N. scoparia*

*N. squamulosa*

*N. tetetzo*

*Cephalocereus columna-trajani*

*Carnegiea gigantea*

*Pachycereus fulviceps*

*P. hollianus*

*P. weberi*

### Autor

(Haw.) Buxbaum

(F.A.C. Weber) Dawson

(Bravo) Backeberg

(E.Y. Dawson) Bravo

(DC.) Backeberg

A. Lau

(Poselger) Backeberg

Scheinvar & Sánchez-m

(J. Coult.) Backeberg

(Weber) Schuman

(Egelman) Britton et Rose

(Weber) Backberg ex Bravo

(Weber) Buxbaum

(J.M. Coulter) Backeberg

### Grupo Externo

*Stenocereus stellatus*

(Pfeiffer) Riccobono

### **5.9.- Análisis de datos de distribución geográfica**

La información obtenida sobre la distribución geográfica de las especies del género *Neobuxbaumia*, se agrupó en una tabla que fue elaborada en el Programa Microsoft Access. Los datos de coordenadas geográficas fueron transformados a unidades de UTM's. Toda esta información se organizó en una base de datos, en la cual se incluyó la totalidad de las colectas del género. Los datos organizados de la forma descrita fueron desplegados con la ayuda del Sistema de Información Geográfica ARC-View, en un mapa de México con División Política por Estados escala 1-15,000,000.



## 6.- RESULTADOS

### 6.1.- Colecta de muestras

Con el propósito de coleccionar muestras de las especies del género *Neobuxbaumia* para los estudios morfológicos, bioquímicos y de contenido de alcaloides; se realizaron seis salidas de campo: dos hacia la Costa del Golfo, dos hacia la Costa del Pacífico y dos en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. En dichas salidas de campo, se obtuvieron colectas de ocho especies del género *Neobuxbaumia*: *N. euforbioides*, *N. macrocephala*, *N. mezcalaensis*, *N. polylopha*, *N. scoparia*, *N. sanchezmejoradae*, *N. squamulosa* y *N. tetetzo*. Cabe mencionar que para cada especie del género, se llevó a cabo una colecta en la época de floración y una recolecta en época de invierno para confirmar los contenidos de alcaloides. Adicionalmente, se obtuvo una muestra de *N. multiareolata* a través de la generosa donación de la Dra. Teresa Terrazas. Los especímenes fueron herborizados y depositados en el herbario IZTA de la FES-Iztacala. Por otro lado, se coleccionaron muestras de las especies seleccionadas como grupos externos: *Carnegiea gigantea*, *Pachycereus hollianus* y *Pachycereus weberi*, *Cephalocereus columna-trajani* y *Stenocereus stellatus*. Las fechas y localidades donde se realizó cada colecta se presentan en la Cuadro 3.

**Cuadro 3. Localidades de colecta de especies de género *Neobuxbaumia* y grupos afines**

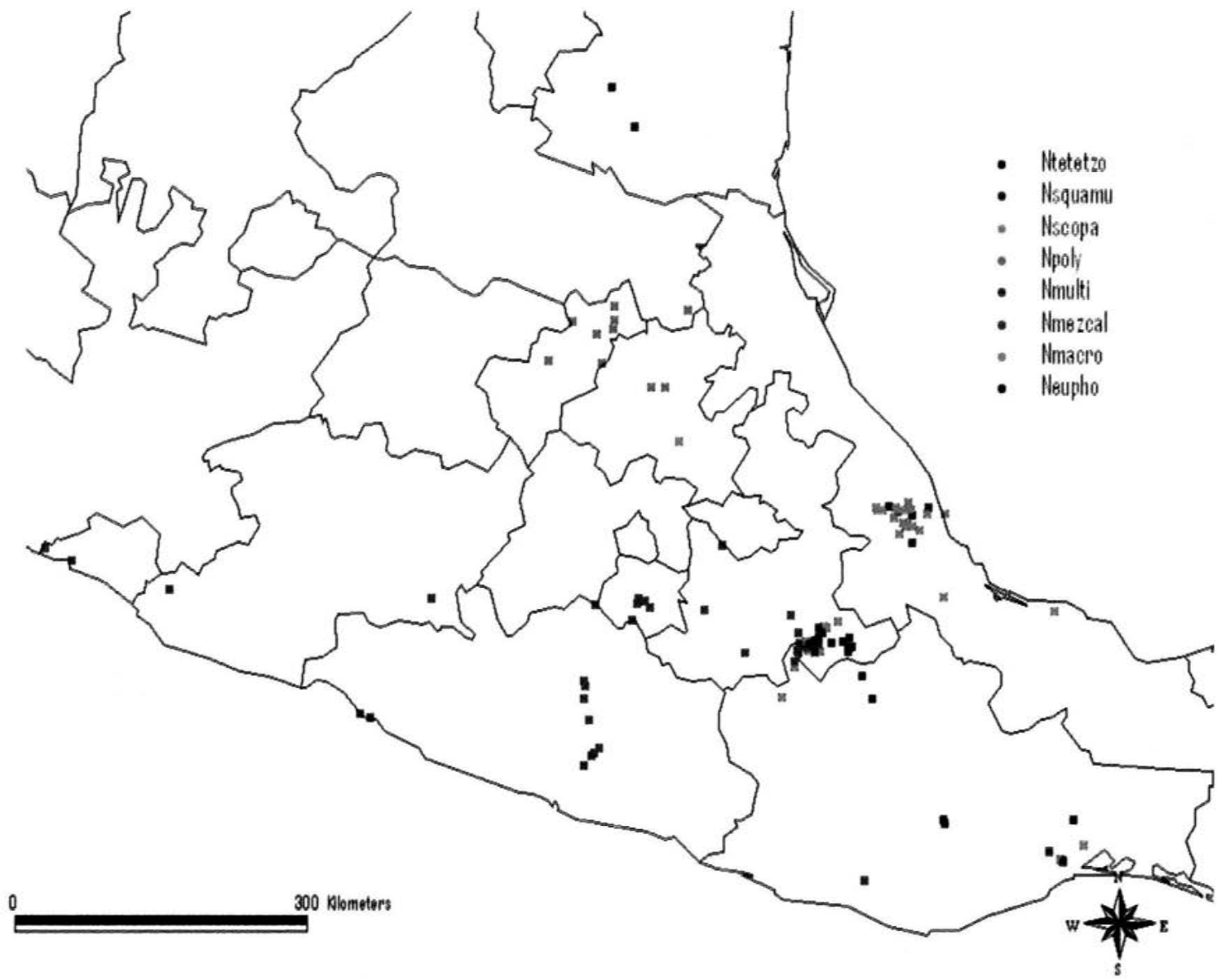
Especie	Fecha	Localidad	No de registro IZTA
<i>Carnegiea gigantea</i>	10-Oct-1999	Autopista Nogales, a 2 km sobre la vereda hacia los Jacales, Guaymas, Sonora	
<i>N. euphorbioides</i>	23-Jun-2001	A 2 km hacia la sierra en Gómez Farias, Tamaulipas	41606
	24-Abr-2003	Trapiche del Rosario, Jalapa, Veracruz	
<i>N. macrocephala</i>	22-Abr-2000	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en las cercanías del pueblo, Santiago Acatepec, Puebla	41607
	21-Abr-2003	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en las cercanías del pueblo Los Reyes Mezontla, Puebla	
<i>N. mezcalaensis</i>	20-Abr-2000	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en las cercanías del pueblo, Santiago Acatepec, Puebla	41608
	21-Abr-2003	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en las cercanías del pueblo Los Reyes Mezontla, Puebla	
<i>N. multiareolata</i>	14-Jun-2001	Carretera libre Chilpancingo-Acapulco, a la altura de la localidad de Tierra Colorada, Guerrero	41609
<i>N. polylopha</i>	21-Jun-2001	Carretera Tequisquiapan-Jalpan, a la altura de la localidad Peña alta, Querétaro.	41610
	12-Abril-2003	Carretera Tequisquiapan- Jalpan, Peña Alta, Municipio de Pinal de Moles, Querétaro.	
<i>N. sanchezmejoradae</i>	16-Abril-2003	Tierra Azul, Santiago Nuyoo Oaxaca	41614
<i>N. scoparia</i>	08-Jun-2001	Carretera Jalapa-Cardel, a la altura del pueblo Palo Gacho, Veracruz	41611
	24-Abr-2003	Carretera Jalapa-Cardel, a la altura del pueblo Palo Gacho, Veracruz	
<i>N. squamulosa</i>	24-Jun-2001	Autopista Colima-Manzanillo , km 17.1. Lareda este, Colima	41612
	15-Abr-2003	Autopista Colima-Manzanillo , km 17.1. Lareda este, Colima	
<i>N. tetetzo</i>	18-Ago-2001	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en las cercanías del Pueblo Zapotitlán Salinas, Puebla	41613
	22-Abr-2003	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en las cercanías del Pueblo Zapotitlán Salinas, Puebla	
<i>Pachycereus hollianus</i>	22-Abr-2003	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en las cercanías del Pueblo Zapotitlán Salinas, Puebla	
<i>Pachycereus weberi</i>	22-Abr-2003	Autopista Tehuacán-Oaxaca, Municipio de Chilac, Puebla.	
<i>Cephalocereus columna-trajani</i>	23-Abr-2003	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en las cercanías del Pueblo, Zapotitlán Salinas, Puebla	
<i>Stenocereus stellatus</i>	23 Abr. 2003	Carretera libre hacia Huajuapán de León, en la cercanías del pueblo Zapotitlán Salinas Puebla.	

## 6.2.- Distribución geográfica del género *Neobuxbaumia*

La información sobre la distribución geográfica de las especies del género *Neobuxbaumia* fue obtenida de los bancos de datos que se encuentran a disposición en la CONABIO. A continuación se listan las bases de datos consultadas.

- Herbario XAL del Instituto de Ecología A. C. México (IE-XAL)
- Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; México (ENCB, IPN)
- Herbario de la Universidad de Texas-Austin, EUA (LL-TEX)
- Herbario IEB del Instituto de Ecología, A. C. México (IE-BAJIO)
- Herbario de la Universidad de Sonora, México (USON)
- Colección de Cactáceas Columnares de México (IE-MORELIA, UNAM)
- Herbario del Jardín Botánico de Nueva York, EUA (NYBG)

Cabe mencionar que de las siete bases de datos consultadas, sólo tres de ellas contenían información sobre colectas del género *Neobuxbaumia*, IE-XAL, IE-BAJIO, IE-MORELIA, UNAM, siendo la Colección de Cactáceas Columnares de México (IE-MORELIA, UNAM), la que presentó mayor información, con 165 ejemplares. Por otro lado, se obtuvo información a través del Catálogo de Cactáceas (Guzmán *et al.*, 2003). Adicionalmente, se consultó la base de datos de la Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Dávila *et al.*, 1993). A partir de las consultas realizadas, se consolidó un conjunto de 201 colectas de individuos del género *Neobuxbaumia* (Apéndice I), de los cuales, 189 presentaban coordenadas geográficas. Toda la información obtenida fue analizada de acuerdo al procedimiento descrito en la Metodología. En el Mapa 1, se presenta la distribución del género *Neobuxbaumia*.



**Mapa 1. Distribución de las especies del género *Neobuxbaumia* en México**

De acuerdo con la revisión que se hizo sobre la distribución del género *Neobuxbaumia*, se observa que es un género endémico de México, que se distribuye en las regiones semiáridas y cálidas secas del noreste, centro y sur del territorio. La mayor riqueza de especies se encuentra al sur del Eje Neovolcánico, incluyendo parte de la Depresión del Balsas, la Costa Pacífica Sur, el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y las Serranías Meridionales. Las especies de *Neobuxbaumia* muestran, en términos generales, preferencias por los sustratos calizos, aunque pueden encontrarse a veces en otros tipos de sustratos. Se asocian con diferentes comunidades vegetales, principalmente los bosques tropicales caducifolios, los bosques espinosos y los matorrales xerófilos. La distribución del género de *Neobuxbaumia* por estados se describe en la Cuadro 4.

**Cuadro 4. Distribución de las especies de *Neobuxbaumia* en México**

<b>GÉNERO</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>DISTRIBUCION</b>
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>euphorbioides</i>	SLP, Tamps, Ver
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>macrocephala</i>	Pue
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>mezcalaensis</i>	Gro, Jal, Mich, Mor, Oax, Pue
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>multiareolata</i>	Gro
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>polylopha</i>	Gto, Hgo, Qro, SLP
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>sanchezmejoradae</i>	Oax
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>scoparia</i>	Oax, Ver
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>squamulosa</i>	Col, Gro, Mich
<i>Neobuxbaumia</i>	<i>Tetetzo</i>	Oax, Pue

La distribución descrita de *Neobuxbaumia* permite observar que los dos principales corredores de diversificación del género se encuentran a lo largo de las Costas Pacífica y del Golfo; siendo *N. euphorbioides*, la especie que alcanza una distribución más norteña y *N. mezcalaensis*, la que se distribuye más hacia el sur.

### 6.3.- Caracteres morfológicos utilizados en el estudio

En el Apéndice II se presentan las descripciones morfológicas del género *Neobuxbaumia* y sus especies. Para el análisis morfológico de este trabajo, se consideró un total de 62 caracteres; 32 vegetativos y 30 reproductivos, codificándolos en binarios, multiestado y de valor absoluto. El cuadro 5, contiene la lista de caracteres y estados de carácter empleados. En este cuadro indica cuáles fueron las codificaciones para cada estado de carácter.

Durante las colectas de los especímenes, se verificaron los estados de carácter vegetativos y reproductivos de cada especie mencionada.

En el Cuadro 6, se muestran los datos sobre ejemplares representativos de cada una de las especies de género *Neobuxbaumia*, así como de aquellas especies pertenecientes a los grupos afines seleccionados.

**Cuadro 5. Lista de caracteres morfológicos y estados de carácter**

No.	Caracteres	Codificación		
		0	1	2
1	Hábito	Columnar	Ramificado	Candelabroiformes
2	Perímetro del tallo (cm)			
3	Constricciones anuales en el tallo	Ausente	Presente	
4	No. de costillas			
5	Tipo de ramificación	Sin ramificación	Basitono	Mesotono
6	Perímetro de las ramas			
7	Cefalio	Ausente	Presente	
8	Pseudocefalio	Ausente	Presente	
9	Altura de costilla (mm)			
10	Base de la costilla (mm)			
11	Sección transversal de costilla joven	Triangular agudo	Triangular redondo	
12	Sección transversal de costilla adulta	Triangular agudo	Triangular redondo	
13	Distancia intercostal (mm)			
14	Depresiones interareolares	Ausente	Presente	
15	Diámetro de la aréola (mm)			
16	Distancia interareolar (mm)			
17	Lana en aréolas	Ausente	Presente	
18	Tipos de aréolas	Determinadas	Indeterminadas	
19	Dimorfismo areolar	Monomorfas	Dimorfas	
20	Cantidad de fieltro	Escaso	Regular	Abundante
21	Arreglo de espinas centrales y radiales	Sin diferenciar	Diferenciadas	
22	Número de espinas radiales			
23	Número de espinas centrales			
24	Forma de espinas centrales	Acicular	Subulada	Cónicas
25	Curvatura de las espinas centrales	Rectas	Curvas	Retorcidas
26	Corte transversal de las espinas centrales	Aplanadas	Cilíndricas	
27	Consistencia de las espinas	Flexibles	Rígidas	
28	Superficie de espinas centrales	Lisa	Estrías transversales	Estrías longitudinales
29	Tamaño de espinas radiales (mm)			
30	Tamaño de espinas centrales (mm)			
31	Ubicación de las flores	Longitudinal	Mitad superior/apical	Apical

**Cuadro 5. Lista de caracteres morfológicos y estados de carácter (Continuación)**

No.	Caracteres	Codificación		
		0	1	2
32	Hábito de apertura de la flor	Nocturno	Mixto	Diurno
33	Forma de la flor	Campanulada	Infundibuliformes	Campa/Infund
34	Largo total de la flor (mm)			
35	Diámetro periantal (mm)			
36	Longitud de segmentos periantales exteriores			
37	Ancho de segmentos periantales exteriores			
38	Longitud de segmentos periantales interiores			
39	Ancho de segmentos periantales interiores			
40	Longitud pericarpelar			
41	Diámetro pericarpelar			
42	Espinas en el pericarpelo	Ausente	Presente	
43	Escamas en los podarios pericarpelares	Ausente	Presente	
44	Longitud del tubo receptacular			
45	Diámetro del tubo receptacular			
46	Podarios en el tubo receptacular	Ausente	Presente	
47	Escamas en los podarios receptaculares	Ausente	Presente	
48	Espinas en los podarios receptaculares	Ausente	Presente	
49	Nectarios extraflorales en el tubo	Ausente	Presente	
50	Longitud del androceo			
51	Cámara nectarial	Abierta	Cerrada	
52	Largo de la cámara nectarial (mm)			
53	Ancho de la cámara nectarial (mm)			
54	Nectarios columnares	Ausente	Presente	
55	Longitud del pistilo			
56	Longitud del estilo			
57	Lóbulos del estigma			
58	Longitud de lóbulos del estigma			
59	Longitud del ovario			
60	Diámetro del ovario			
61	Cristales de oxalato de calcio			
62	Cuerpos de sílice			



**Cuadro 6. Estados de carácter morfológicos de las especies del género *Neobuxbaumia* y grupos afines**

Especie	Carácter																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
<i>N.euphorbioides</i>	0	38	1	8	0	38	0	0	22.3	19.4	0	0	33.6	1	3.82	12.7	1	1	1	0	1
<i>N.macrocephala</i>	1	100	1	21	2	89	0	1	26.6	29	0	1	36.9	1	10.7	21.8	1	1	1	2	1
<i>N.mezcalaensis</i>	0	72	1	18	0	0	0	0	17.3	30.2	0	1	38.2	0	5	23.3	1	1	0	0	1
<i>N.polylopha</i>	0	72	1	36	0	0	0	1	7.66	27	1	1	30.3	1	3.62	8.4	0	0	1	0	1
<i>N.scoparia</i>	2	47	0	17	1	28	0	1	12.4	18.4	0	1	24	1	2.36	15	1	1	1	0	1
<i>N.tetetzto</i>	1	70	1	14	1	68	0	0	16.8	14.2	0	1	45.7	1	9.82	18.7	1	1	1	0	1
<i>C.columnatrajani</i>	0	86	1	21	0	0	1	0	18	37.9	0	1	44.9	1	11.1	12.8	1	1	1	1	1
<i>P.hollianus</i>	1	38	0	12	0	38	0	0	11.8	17.8	1	1	24.4	0	11	36.4	0	1	0	0	1
<i>N.sanchezmejoradae</i>	1	31.4	1	30	2	31.4	0	1	8	10	1	1	18.5	0	5	5	1	1	0	1	0
<i>N.multiareolata</i>	0	47.1	1	18	0	0	0	0	18	13	1	1	40	1	2	7	0	1	0	1	1
<i>N.squamulosa</i>	0	15.7	1	17	0	0	0	0	12.5	14.5	1	1	42	0	5	10	0	1	0	0	1
<i>C.gigantea</i>	1	188	1	20	2	69	0	0	36.6	16.3	1	1	50	0	9.79	25	1	0	0	2	1
<i>S.stellatus</i>	1	34.6	1	8	2	11	0	0	22	34	1	1	45	0	7	27	0	1	0	0	1
<i>P.fuilviceps</i>	1	170	1	14	2	80	0	1	35.1	42.6	0	1	57.5	1	8.22	25.3	0	0	1	2	1
<i>P.weberi</i>	2	210	1	12	1	61	0	0	16.8	36.7	0	1	53.4	0	8	50	0	0	0	0	1

Especie	Carácter																					
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
<i>N.euphorbioides</i>	11	1	0	0	1	0	0	16.5	20.3	1	1	0	58.1	35.7	17.7	4.64	7.62	4.64	16.7	13.8	1	
<i>N.macrocephala</i>	16	5	0	0	1	1	0	10.7	25.9	2	0	0	48.8	27	22.3	6.76	15	5.7	13.9	14.9	1	
<i>N.mezcalaensis</i>	8	1	1	0	1	1	0	13.9	22.4	0	1	0	70.1	50.6	12.2	7.24	15.6	6.44	5.54	8.52	0	
<i>N.polylopha</i>	7	1	0	1	1	0	0	20	22	2	0	0	71.5	35.6	19	6.89	14.4	6.29	18.7	14	0	
<i>N.scoparia</i>	5	1	0	0	1	0	0	9.72	11.6	2	0	0	47.7	29.7	9.03	7.6	14	7.67	11.7	13.6	0	
<i>N.tetetzto</i>	10	1	0	0	1	1	0	10.2	43.8	2	0	0	72.8	41.2	12.4	7.23	12.2	8.29	17.6	11.8	1	
<i>C.columnatrajani</i>	18	1	0	0	1	1	0	11.3	53.3	2	0	0	80.7	25.6	16.6	3.98	13	3.98	16.1	12.9	0	
<i>P.hollianus</i>	14	5	0	0	0	1	2	13.7	46.1	2	1	0	99.2	40.7	16.5	12.9	15.4	7.99	28.7	25	1	
<i>N.sanchezmejoradae</i>	4	10	0	0	1	1	0	10	30	2	1	0	35	13	5	2.5	5	2.5	20	10	1	
<i>N.multiareolata</i>	4	1	1	0	1	0	0	35	35	0	0	0	45	20	11	5	11	3	10	12	1	
<i>N.squamulosa</i>	4	1	0	1	1	1	1	11	22	2	1	1	8.6	71.4	19	6.65	19	8.29	9.73	16.6	0	
<i>C.gigantea</i>	12	4	0	1	1	1	2	15	70	2	0	0	100	90	12.6	5.97	24.3	9.06	25	17.5	1	
<i>S.stellatus</i>	9	3	0	0	0	1	2	9	18	2	1	0	50.2	31	17.9	6.9	20.4	7.05	11	12.3	1	
<i>P.fuilviceps</i>	10	1	0	0	1	1	0	13.2	58.9	1	0	1	60	65	12	10	15	12	65	11	1	
<i>P.weberi</i>	6	1	0	0	0	1	1	14.7	36.6	1	2	1	90	20	19	10.5	30.5	9.5	21.5	20	1	

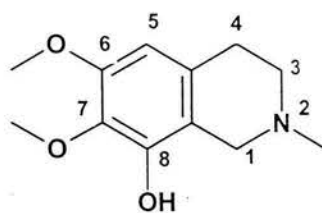
**Cuadro 6. Estados de carácter morfológicos de las especies del género *Neobuxbaumia* y grupos afines (Continuación)**

Especie	Carácter																			
	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62
<i>N.euphorbioides</i>	1	37.3	11.8	1	1	1	0	25.2	1	8.34	5.56	1	33.3	26.8	2	8.82	11.8	8.01	1	0
<i>N.macrocephala</i>	1	34.6	20.8	1	1	1	0	31.8	1	11.4	11.6	1	33.7	23.7	2	4.76	6.73	5.12	1	0
<i>N.mezcalaensis</i>	1	41.6	20.7	1	1	0	0	33.8	1	13.5	8.81	1	4.13	3.26	6	7	2.86	2.79	1	0
<i>N.polylopha</i>	1	38.9	21.5	1	1	0	1	26.2	1	13.1	8.61	1	33.4	24	8	7.44	14.4	6.83	1	0
<i>N.scoparia</i>	1	32	18.4	0	1	0	1	18.9	1	11.4	15.2	1	30	22.3	5	7.77	8.16	8.01	1	0
<i>N.tetetzo</i>	0	45.4	19.3	1	0	1	0	36.2	1	11.8	9.02	1	47.1	34.2	7	11.6	12.6	5.24	1	0
<i>C.columnatrajani</i>	0	59.9	18.4	1	0	1	0	31.3	0	25.2	10.9	1	48.9	39	6	8.57	13	6.07	1	0
<i>P.hollianus</i>	0	65.4	24.7	1	1	1	0	36.7	0	19.5	5.36	1	64.1	46.5	13	14.8	14.7	7.64	1	0
<i>N.sanchezmejoradae</i>	1	15	10	1	1	1	0	15	1	6	4	1	22	16	6	4	15	10	1	0
<i>N.multiareolata</i>	1	20	10	1	1	0	0	10	1	9	6	1	29	24	5	1.8	4	6	1	0
<i>N.squamulosa</i>	1	65.9	29.4	1	1	0	0	50.8	1	12.9	11.1	1	68.1	62.8	11	5.24	5.94	6.88	1	0
<i>C.gigantea</i>	1	62.25	35	1	1	0	0	62.5	0	20	26.3	1	70	60	11	15.8	14.6	9.92	1	0
<i>S.stellatus</i>	1	41.8	17.4	1	0	0	0	40	0	9.41	6.68	1	35	25.5	9	7.85	5.33	5.58	0	1
<i>P.fuilviceps</i>	1	51	30.7	1	1	1	0	27.4	0	8	10	0	51.3	47.9		4.78	5	8	1	0
<i>P.weberi</i>	1	51.5	36	1	1	1	0	50.3	0	10.6	7.94	0	49	33.1	8	6.61	10.6	6.61	1	0

#### 6.4.- Caracteres de alcaloides

La determinación cualitativa de alcaloides realizada en este trabajo permitió observar, que en algunas de las especies del género *Neobuxbaumia* sólo se registran niveles traza de alcaloides. No obstante que los resultados del análisis cualitativo muestran niveles muy bajos, la extracción exhaustiva por partición ácido/básica, la posterior purificación mediante cromatografía de placa fina preparativa y el análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, permitió la identificación de tres alcaloides en especies del género: anhalidina, carnegina y salsolidina. Estos fueron identificados a través de la inspección del espectro de masas correspondiente. Cabe mencionar que la extracción de alcaloides de las especies de *Neobuxbaumia* y la identificación espectroscópica que se describe a continuación fue publicada como producto del presente trabajo (Flores *et al.*, 2003) y es el primer reporte de la presencia de alcaloides en las especies de *N. multiareolata*, *N. scoparia* y *N. tetetzo*.

En la Figura 9 se muestra el espectro de masas de anhalidina y en la Figura 10, el patrón de fragmentación propuesto para este alcaloide. La primera pérdida de este compuesto es un hidrógeno en C-1, con lo cual, se conjuga la aromaticidad del benceno con el anillo fusionado, estabilizando el ión radical, que de hecho, es el pico base (Figura 10). En esta misma ruta de fragmentación se observa la deshidratación del alcaloide para formar el pico e/z 204. Por otro lado, una ruta alternativa de fragmentación implica la pérdida del carbono base del fenol en forma de monóxido de carbono para rendir el pico e/z 194, el cual puede sufrir tres fragmentaciones ulteriores: con la pérdida de metilo (e/z 179), metilamina (e/z 165) y etilamina (e/z 151).



**Anhalidina**

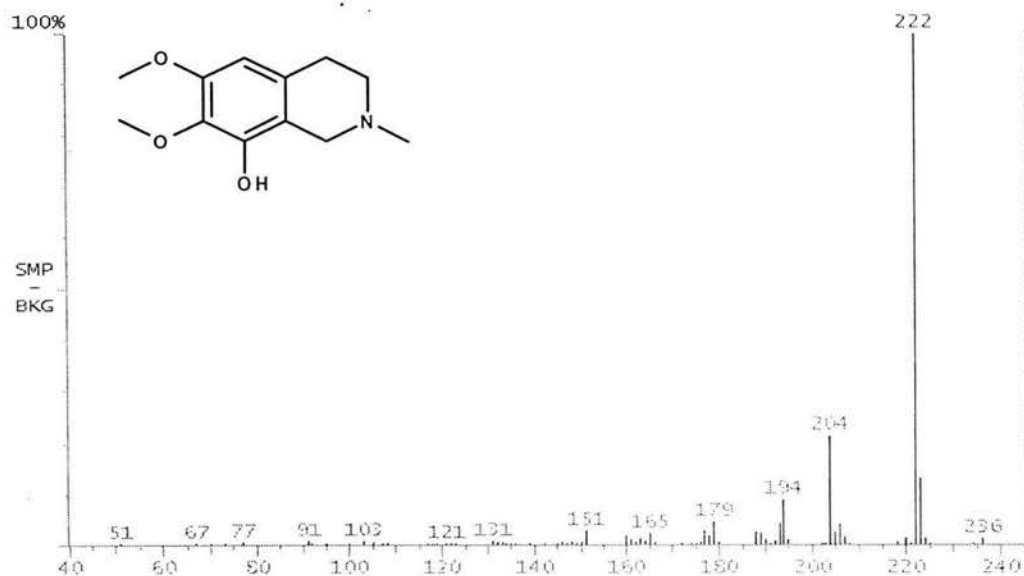


Figura 9. Espectro de masas de Anhalidina

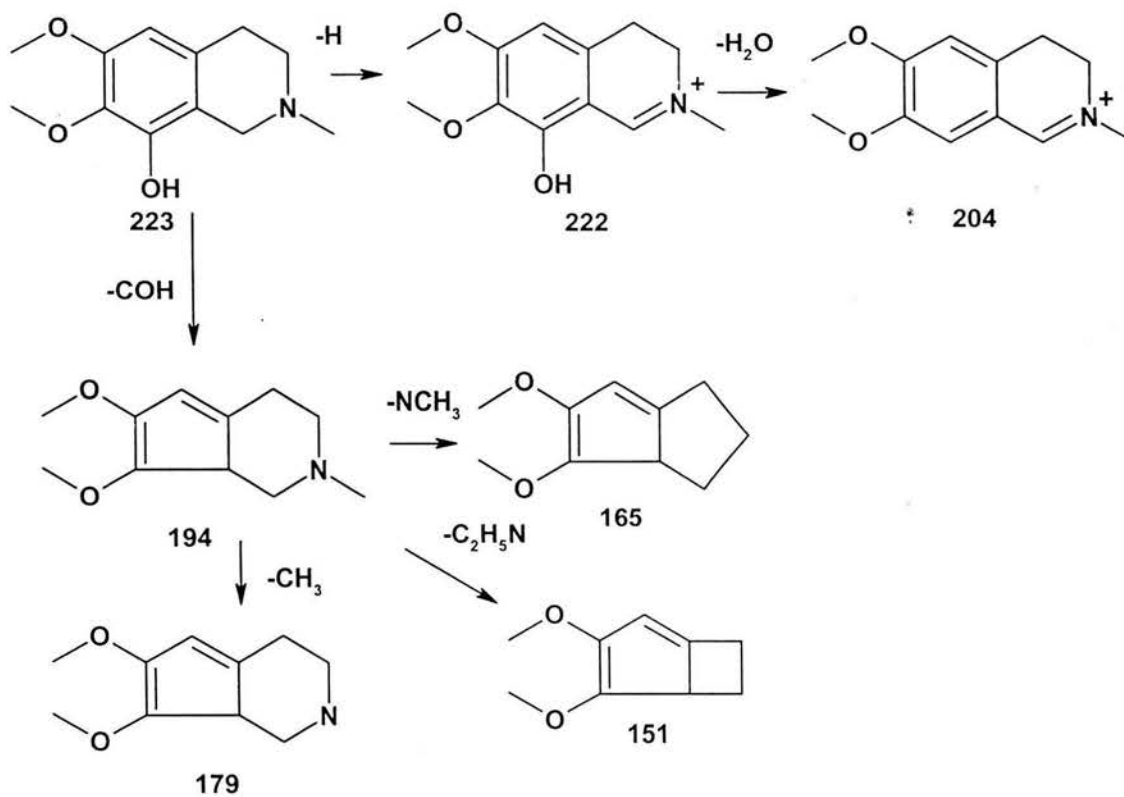
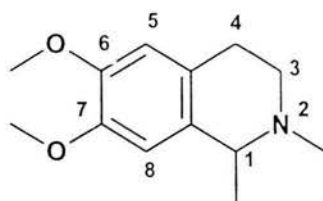


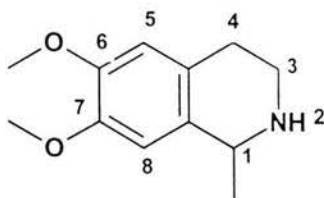
Figura 10. Patrón de fragmentación de masas de Anhalidina

Con respecto a la identificación de la carnegina, en la Figura 11 se puede observar el espectro de masas de este compuesto, en tanto que en la Figura 12 se presenta el patrón de fragmentación propuesto. La abundancia del pico base de este compuesto ( $m/z$  206), es el resultado de dos posibles fragmentaciones: 1) la pérdida del N-metilo; y 2) la ruptura del metilo metoxílico en la posición C-6. Posteriormente, el compuesto puede sufrir dos fragmentaciones, una pérdida de monóxido de carbono para formar el ion  $m/z$  178 y una ruptura de metilo en la posición C-1 para estabilizar el equilibrio cetoenólico que se presenta en el alcóxido de la posición C-6, a través de la conjugación de los electrones  $\pi$ . Finalmente, la presencia del pico  $m/z$  162 se explica por la pérdida de metilamina.



**Carnegina**

Por otro lado, el espectro de masas de la salsolidina y el patrón de fragmentación propuesto, se presentan en las Figuras 13 y 14 respectivamente. El pico base de este compuesto se produce por la fragmentación del metilo en la posición C-6, el cual posteriormente, pierde un hidrógeno y el metoxilo de la posición C-7, para producir el ión  $m/z$  160. Por otra parte, se observa una reacción de retro Diels-Alder en el anillo fusionado, generando el ión  $m/z$  178, el cual se fragmenta con la pérdida de los dos metoxilos para formar el ión  $m/z$  117.



**Salsolidina**

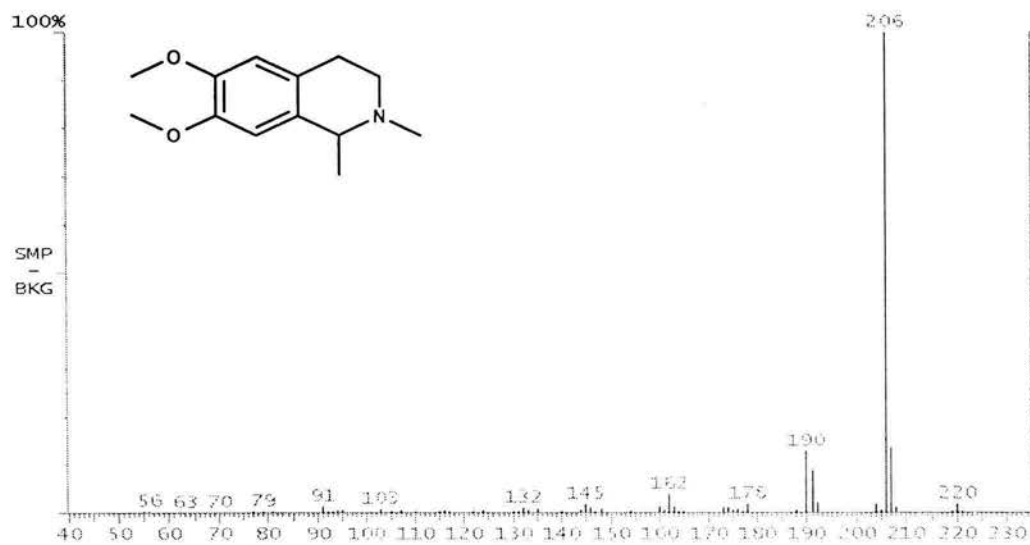


Figura 11. Espectro de masas de Carnegina

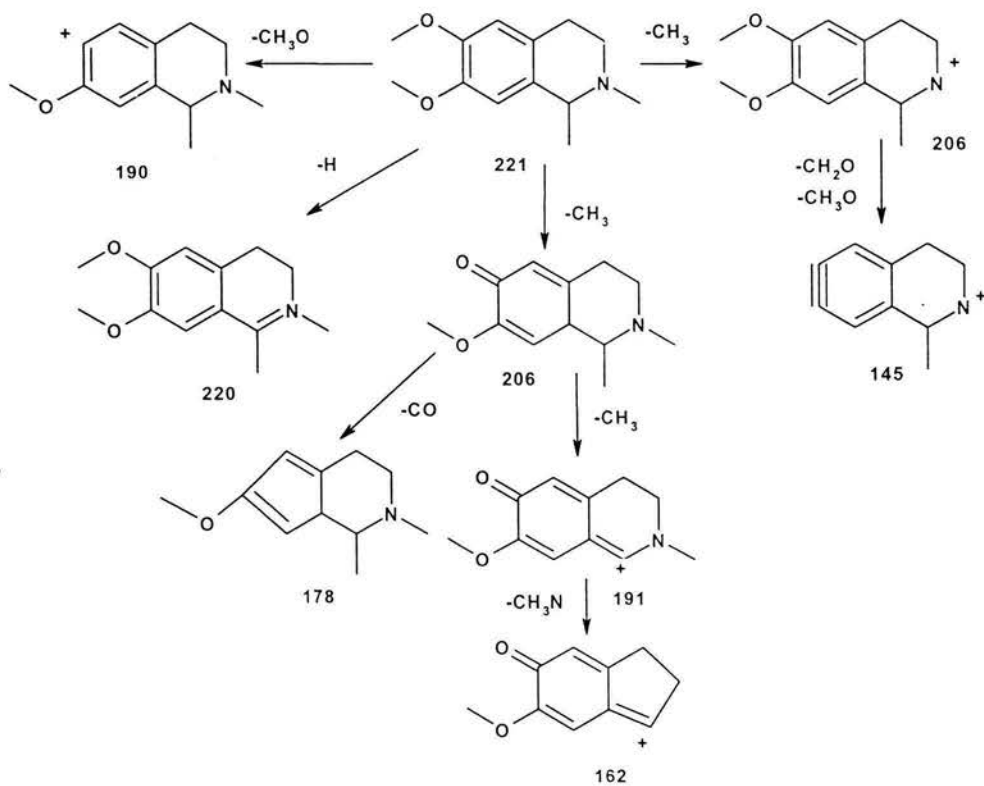


Figura 12. Patrón de fragmentación de masas de Carnegina

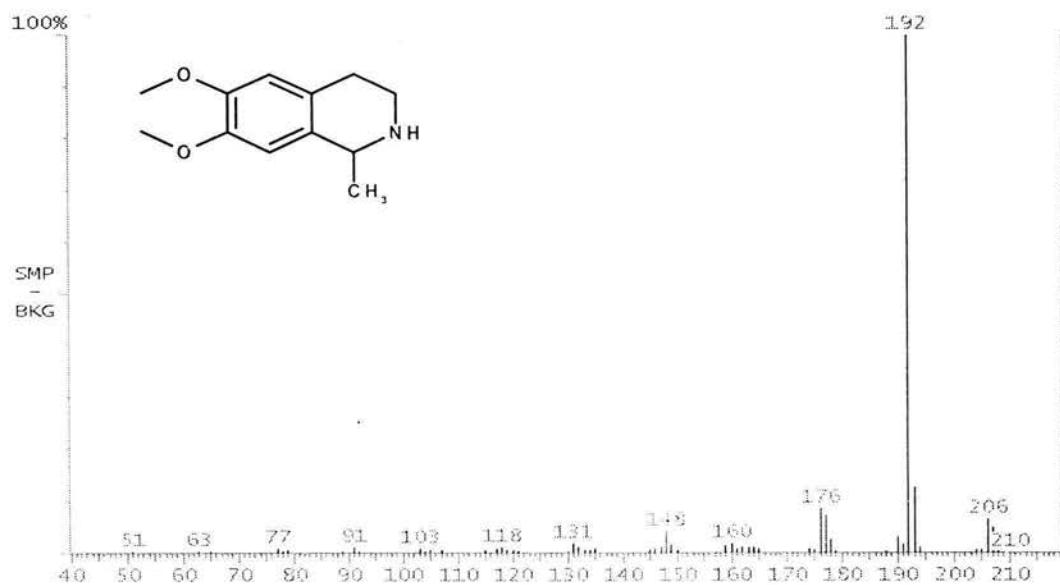


Figura 13. Espectro de masas de Salsolidina

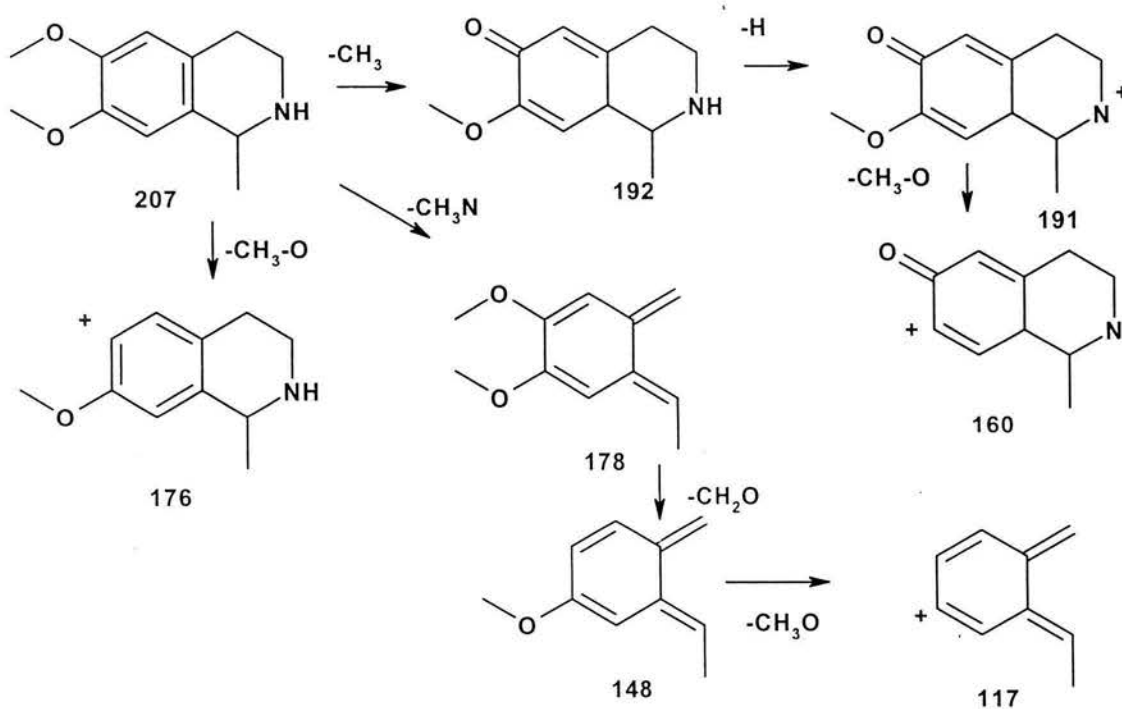


Figura 14. Patrón de fragmentación de masas de Salsolidina

Los alcaloides descritos; anhalidina, carnegina y salsolidia, fueron identificados en muestras de las especies *N. macrocephala*, *N. multiareolata*, *N. scoparia* y *N. tetetzo*. Por otro lado, la presencia de heliamina, se había reportado previamente en *N. mezcalaensis* (Gibson *et al.*, 1986) y en el presente trabajo se identificó en *Pachycereus fulviceps*. Cabe mencionar que para las especies *N. euphorbioides*, *N. polylopha* y *N. sanchezmejoradae*, se asignó la presencia 3-hidroxi-4-metoxifenetilamina, el cual es un metabolito primario precursor de tetrahidroisoquinolinas. Asimismo, en los extractos de *Carnegiea gigantea*, se identificaron los tres alcaloides mencionados, así como gigantina y weberina. Además, en extractos obtenidos de *Pachycereus weberi* y *Pachycereus hollianus*, se identificó la presencia de los alcaloides 4,4-dimetoxi fenetilamina, weberina y pelotina. En el Cuadro 7 se resumen los resultados de presencia de alcaloides identificados en este trabajo y los reportados en la literatura.

Aún cuando los resultados revelan la presencia de alcaloides en algunas especies de *Neobuxbaumia*, la cantidad total de estos metabolitos en cada especie fue diferente. *Neobuxbaumia multiareolata* muestra la mayor concentración de alcaloides, mientras que *N. scoparia*, la menor. El alcaloide con mayor concentración fue carnegina, mientras que anhalidina fue el que presentó la menor concentración. Por otro lado, en las especies de *Carnegiea gigantea*, *Pachycereus weberi* y *Pachycereus hollianus*, se registraron concentraciones significativamente superiores de alcaloides, siendo también carnegina el metabolito mayoritario en este grupo.

Cabe mencionar que también se realizaron extractos y análisis de alcaloides en las especies de *Stenocereus stellatus* y *Cephalocereus columna-trajani*, en los cuales no se detectó presencia alguna de alcaloides.



**Cuadro 7. Alcaloides identificados en especies de *Neobuxbaumia* y grupos relacionados.**

<b>Especies</b>	<b>Alcaloides</b>
<i>N. euphorbioides</i>	Sin Tetrahydroisoquinolinas
<i>N. macrocephala</i>	Anhalidina Carnegina Salsolidina
<i>N. mezcalaensis</i>	Heliamina
<i>N. polylopha</i>	Sin Tetrahydroisoquinolinas
<i>N. scoparia</i>	Anhalidina Carnegina Salsolidina
<i>N. tetetzo</i>	Anhalidina Carnegina Salsolidina
<i>N. sanchezmejoradae</i>	Sin Tetrahydroisoquinolinas
<i>N. multiareolata</i>	Anhalidina Carnegina Salsolidina
<i>N. squamulosa</i>	Sin Tetrahydroisoquinolinas
<i>Carnegiea gigantea</i>	3-metoxifenetilamina 3-metoxitiramina Anhalinina Arizonina Carnegina Dopamina Gigantina Salsolidina Tehuana Weberina
<i>Pachycereus weberi</i>	Anhalonidina Heliamina Lemairocerina N-metilheliamina nor-Tehuana Pellotina Salsolidina Tehuana Weberidina Weberina
<i>Pachycereus hollianus</i>	3,4-dimetoxifenetilamina Salsolidina Pellotina
<i>Pachycereus fulviceps</i>	Heliamina
<i>Stenocereus stellatus</i>	Sin Tetrahydroisoquinolinas
<i>Cephalocereus columnatrajani</i>	Sin Tetrahydroisoquinolinas

### 6.5.- Caracteres de isoenzimas

Los extractos de proteínas solubles de plántulas de especies de *Neobuxbaumia* y grupos relacionados fueron empleados para el estudio de las isoenzimas Esterasas, Fosfatasas y Peroxidasas. En la Figura 15 se observan los resultados obtenidos del revelado de Esterasas. En la Figura 15 es posible observar 16 isoformas de la enzima en las diferentes especies, de las cuales *Carnegiea gigantea* presentó la mayor variabilidad de este carácter, con nueve isoformas de esteratasas, en tanto que la que presenta menor polimorfismo, fue *N. macrocephala*, con tres isoenzimas. Por otro lado, es posible observar en la Figura 15, que las especies que registraron mayor actividad de esteratasas fueron *N. squamulosa* y *N. euphorbioides*, lo cual se hace evidente por la saturación del revelado de las isoenzimas. Es notorio el contraste en el patrón de bandeo de *Stenocereus stellatus*, el cual sólo presenta similitud con especies de *Neobuxbaumia* en dos de las cuatro esteratasas reveladas.

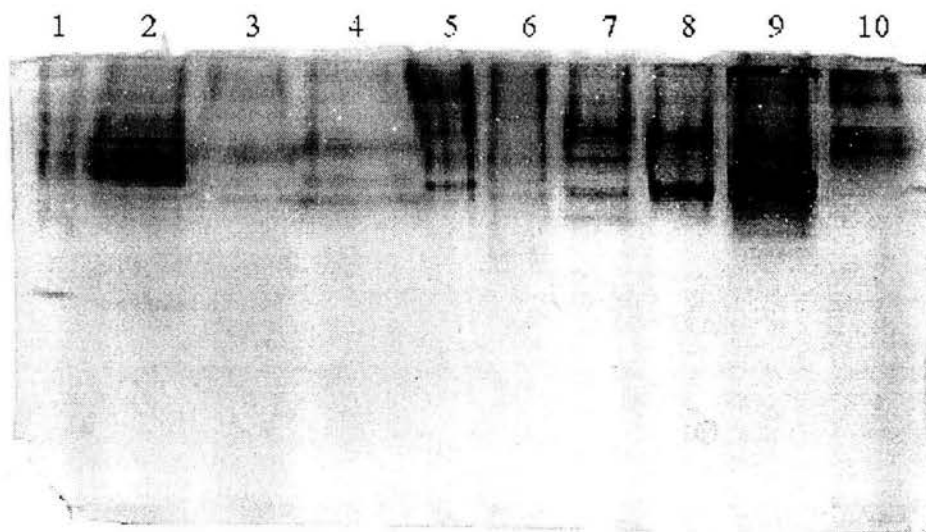


Figura 15. Isoformas de Esterasas de especies de género *Neobuxbaumia*. 1 *Carnegiea gigantea*, 2 *N. squamulosa*, 3 *N. macrocephala*, 4 *N. polylopha*, 5 *N. scoparia*, 6 *N. tetetzo*, 7 *N. multiareolata*, 8 *N. mezcalaensis*, 9 *N. euphorbioides*, 10 *Stenocereus stellatus*.

Asimismo, el revelado de las isoenzimas de fosfatasas se puede observar en la Figura 16, donde se aprecia que éstas presentaron el menor polimorfismo entre las enzimas estudiadas. En general, sólo se presenta una isoforma de fosfatasa en cada especie, por lo cual, se detectaron un total de cinco formas entre las especies, de las cuales la mayor similitud se observa entre las especies de *Neobuxbaumia*, las cuales contrastan con el patrón de *Stenocereus stellatus*.

Con respecto a la actividad de las peroxidasas, en la Figura 17 se puede observar el patrón de bandeo para esta enzima. En total se registraron 13 diferentes isoformas de peroxidasas, siendo *N. polylopha* la especie más polimorfa; en contraste, *N. macrocephala* reveló la presencia de dos isoperoxidasas. Cabe mencionar que la mayor similitud entre las isoenzimas de peroxidasas se registró entre las especies del género *Neobuxbaumia*, mientras que *Carnegiea gigantea* y *Stenocereus stellatus* muestran similitud con las especies de *Neobuxbaumia* en dos de las isoenzimas que se revelaron.

Adicionalmente, en el presente trabajo se registraron los patrones de proteínas totales de los extractos de todas las especies en estudio, a través de lo cual se determinaron un total de 29 bandas de proteínas y peptidos desnaturalizados. A partir de los resultados de proteínas totales, se estableció que la especie con la mayor variabilidad fue *N. polylopha*, en tanto que *N. squamulosa*, presentó la menor variabilidad.

Con los resultados obtenidos sobre los patrones isoenzimáticos de estererasas, fosfatasas y peroxidasas; se construyó una matriz de datos, codificando los caracteres de isoenzimas en binarios (presencia vs ausencia), la cual se muestra en el Cuadro 8.



Figura 16. Isoformas de Fosfatasas de especies de género *Neobuxbaumia*. 1 *Carnegiea gigantea*, 2 *N. squamulosa*, 3 *N. macrocephala*, 4 *N. polylopha*, 5 *N. scoparia*, 6 *N. tetetzo*, 7 *N. multiareolata*, 8 *N. mezcalaensis*, 9 *N. euphorbioides*, 10 *Stenocereus stellatus*.

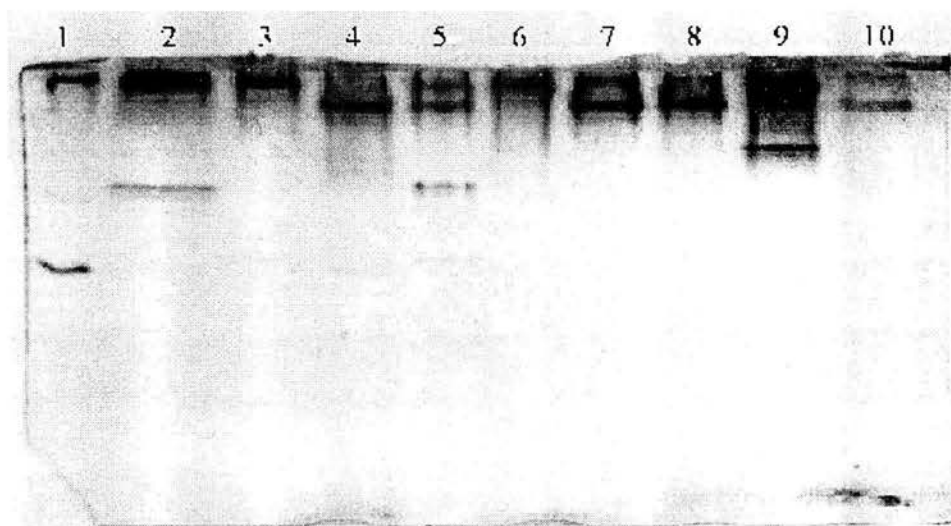


Figura 17. Isoformas de Peroxidasas de especies de género *Neobuxbaumia*. 1 *Carnegiea gigantea*, 2 *N. squamulosa*, 3 *N. macrocephala*, 4 *N. polylopha*, 5 *N. scoparia*, 6 *N. tetetzo*, 7 *N. multiareolata*, 8 *N. mezcalaensis*, 9 *N. euphorbioides*, 10 *Stenocereus stellatus*.

**Cuadro 8. Matriz de caracteres isoenzimáticos del género *Neobuxbaumia* y especies relacionadas**

	No.	<i>Neuph</i>	<i>Nmacr</i>	<i>Nmezc</i>	<i>Npoly</i>	<i>Nscop</i>	<i>Ntetet</i>	<i>Nsanc</i>	<i>Nmult</i>	<i>Nsqua</i>	<i>Cgiga</i>	<i>Stella</i>
Fosfatasa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	2	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0
	3	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Esterasa	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	7	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	9	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	11	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
	12	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
	13	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	14	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0
	15	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
	16	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
	17	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0
	18	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
	19	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	Peroxidasas	21	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
22		1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
23		0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0
24		0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1
25		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
26		0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
27		1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
28		1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
29		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
30		0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
31		0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
32		0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
33		0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
34		1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1

## 7.- ESTUDIO FENÉTICO

### 7.1.- Análisis fenético morfológico

Con la información obtenida del estudio morfológico de las nueve especies del género *Neobuxbaumia* y las especies *Carnegiea gigantea*, *Pachycereus hollianus*, *P. weberi*, *P. fulviceps*, *Cephalocereus columna-trajani* y *Stenocereus stellatus*, se construyó una tabla de caracteres codificados en binarios, multiestado y valor absoluto. Con base en lo anterior, se obtuvo una matriz de 15 especies, distribuidas en 60 OTUS y un total de 62 caracteres, la cual se estandarizó y fue utilizada para el cálculo de los coeficientes de similitud empleando el Índice de Correlación. La matriz de similitud obtenida fue utilizada para realizar el agrupamiento de los taxones, empleando el algoritmo de UPGMA (Figura 18).

Inicialmente, es importante hacer notar que los OTUS o individuos de las especies se agrupan formando grupos homogéneos que delimitan a las diferentes especies. Por otro parte, llama la atención el agrupamiento de las especies de otros géneros empleadas en este estudio morfológico, los cuales muestran mayor similitud con *Neobuxbaumia*, incluso por encima de especies del mismo género. Es evidente la agrupación de las especies del género *Pachycereus*, los cuales muestran similitud con *Carnegiea gigantea* y *Stenocereus stellatus*. Así mismo, al interior del género *Neobuxbaumia* se observa un agrupamiento entre las especies de *N. euphorbioides*, *N. macrocephala*, *N. sanchezmejoradae* y *N. tetetzo*, las cuales comparten entre sí características morfológicas vegetativas. En otro grupo separado se incluyen *N. mezcalaensis*, *N. polylopha*, *N. multiareolata*, *N. squamulosa* y *N. scoparia*.

Por otro lado, se puede observar variabilidad significativa al interior de cada especie, particularmente en las especies de *N. euphorbioides*, *N. mezcalaensis* y *N. scoparia*.

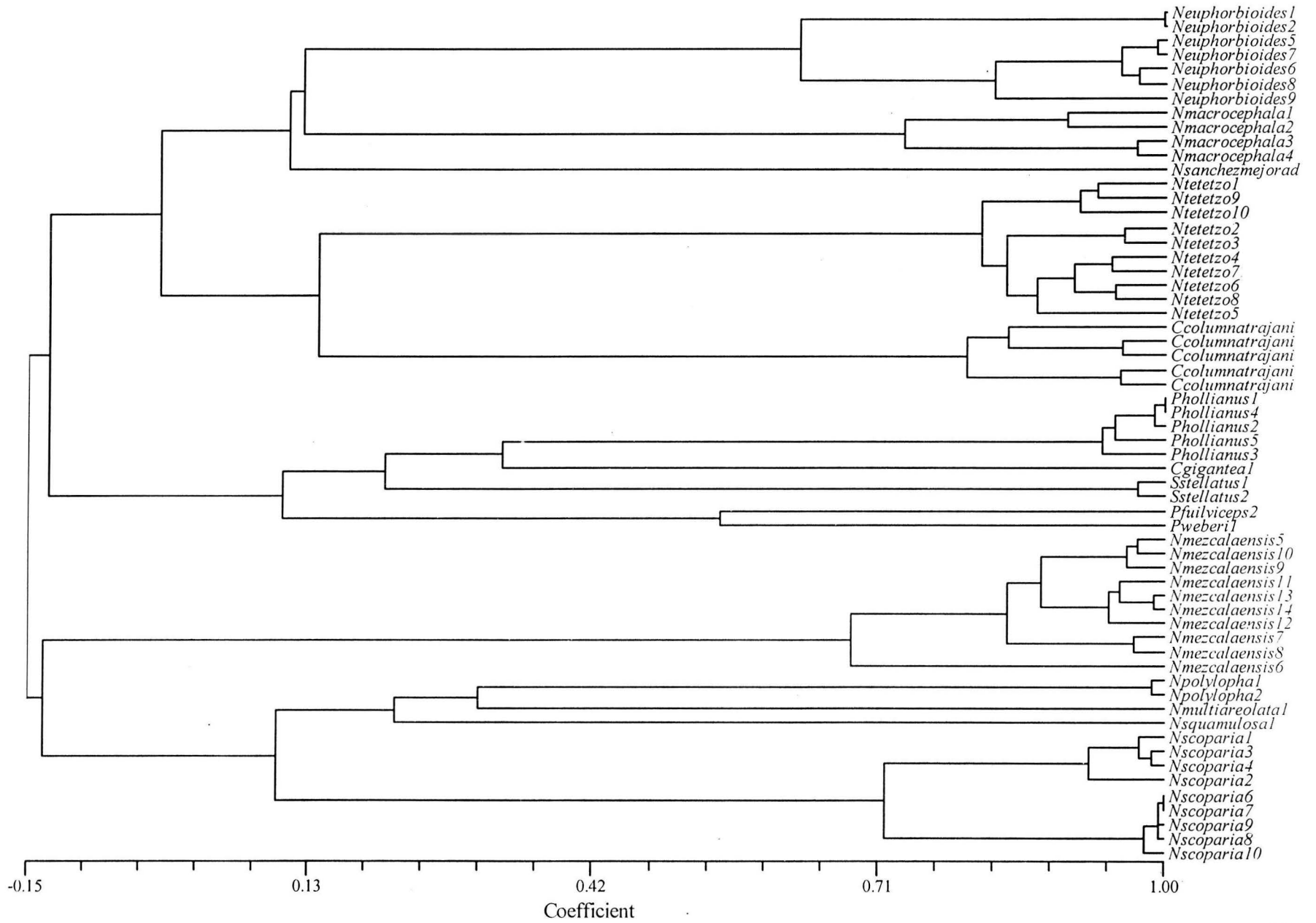


Figura 18. Fenograma de caracteres morfológicos del género *Neobuxbaumia* y especies afines

## 7.2.- Análisis fenético de alcaloides

Con la información obtenida del estudio de alcaloides (Cuadro 7) y los reportados en la literatura, se construyó una tabla de caracteres para cada una de las especies analizadas. Con base en lo anterior, se obtuvo una matriz conteniendo la información de 15 especies, con un total de 19 caracteres codificados en forma binaria (presencia vs ausencia), los cuales se muestran en el Cuadro 9. La matriz de coeficientes de similitud obtenida a partir del índice de Jaccard se observa en el Cuadro 10. La matriz de coeficientes de similitud obtenida fue empleada para realizar el agrupamiento de los taxones utilizando el algoritmo de UPGMA (Figura 19).

El fenograma resultante muestra una topología en la cual se agrupan con 100% de similitud tres grupos de especies. El primer grupo está constituido por *N. euphorbioides*, *N. polylopha*, *N. sanchezmejoradae*, *N. squamulosa* y *C. columnatrajani*, las cuales carecen de alcaloides del tipo de tetrahydroisoquinolinas. El segundo se constituye por *N. macrocephala*, *N. scoparia*, *N. tetetzo* y *N. multiareolata*, que presentan en común la presencia de los alcaloides anhalidina, carnegina y gigantina; y el tercero por *N. mezcalaensis* y *Pachycereus fulviceps* que presentan en común el alcaloide heliamina. Cabe mencionar que las especies *Pachycereus hollianus*, *Carnegiea gigantea* y *Pachycereus weberi* se relacionan con los tres grupos mencionados respectivamente. En contraste, *Stenocereus stellatus*, que no presenta alcaloides, no muestra similitud con ninguno de los taxones analizados.



**Cuadro 9. Matriz de caracteres de alcaloides del género *Neobuxbaumia* y especies afines**

Alcaloide	Especie														
	<i>Neupho</i>	<i>Nmacro</i>	<i>Nmezc</i>	<i>Npoly</i>	<i>Nscopa</i>	<i>Ntetet</i>	<i>Nsanch</i>	<i>Nmulti</i>	<i>Nsqua</i>	<i>Cgiga</i>	<i>Pweber</i>	<i>Pholli</i>	<i>Pfulvice</i>	<i>Sstella</i>	<i>Ccolum</i>
3,4-Dimetoxifenetilamina	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
3-metoxifenetilamina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
3-metoxitiramina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Anhalidina	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Anhalinina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Anhalonidina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Arizonina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Carnegina	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Dopamina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Gigantina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Heliamina	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Lemairocerina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
N-metilheliamina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
nor-Tehuana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Pellotina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Salsolidina	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0
Tehuana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Weberidina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Weberina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0

**Cuadro 10. Matriz de coeficientes de similitud de caracteres de alcaloides del género *Neobuxbaumia* y especies afines**

	<i>Neupho</i>	<i>Nmacro</i>	<i>Nmezca</i>	<i>Npoly</i>	<i>Nscopa</i>	<i>Ntetet</i>	<i>Nsanch</i>	<i>Nmulti</i>	<i>Nsqua</i>	<i>Cgiga</i>	<i>Pweber</i>	<i>Pholli</i>	<i>Pfulvice</i>	<i>Sstella</i>	<i>Ccolum</i>
<i>Neupho</i>	1.0000														
<i>Nmacro</i>	0.0000	1.0000													
<i>Nmezca</i>	0.0000	0.0000	1.0000												
<i>Npoly</i>	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000											
<i>Nscopa</i>	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000										
<i>Ntetetzo</i>	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	1.0000									
<i>Nsanchez</i>	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000								
<i>Nmulti</i>	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	1.0000	0.0000	1.0000							
<i>Nsquam</i>	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	1.0000						
<i>Cgiga</i>	0.0000	0.3000	0.0000	0.0000	0.3000	0.3000	0.0000	0.3000	0.0000	1.0000					
<i>Pweberi</i>	0.0000	0.0833	0.1000	0.0000	0.0833	0.0833	0.0000	0.0833	0.0000	0.1111	1.0000				
<i>Pholli</i>	0.3333	0.2000	0.0000	0.3333	0.2000	0.2000	0.3333	0.2000	0.3333	0.0833	0.1818	1.0000			
<i>Pfulviceps</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1000	0.0000	1.0000		
<i>Sstellatus</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	
<i>Ccolumn</i>	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.3333	0.0000	0.0000	1.0000

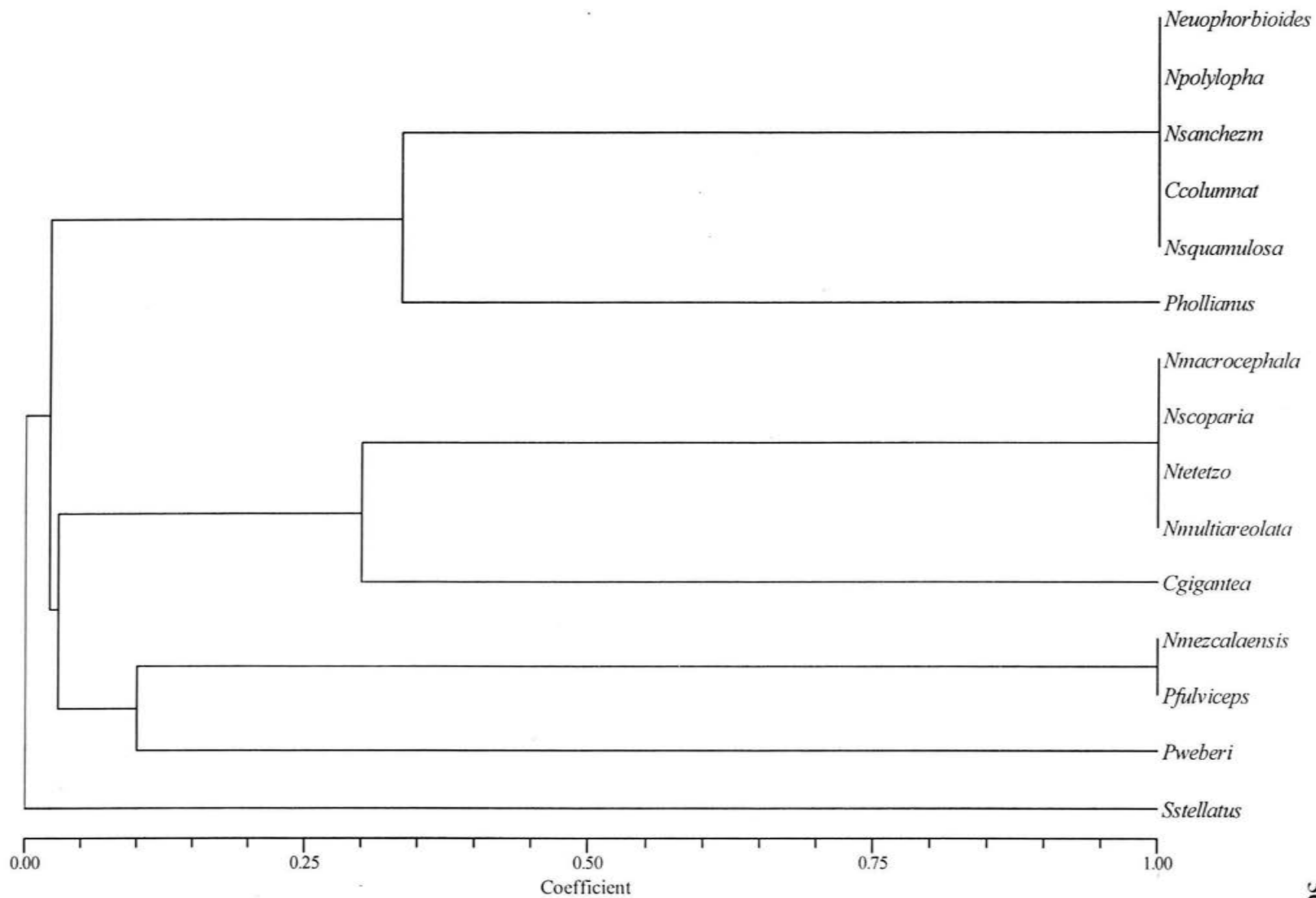


Figura 19. Fenograma de caracteres de alcaloides del género *Neobuxbaumia* y especies afines

### 7.3.- Análisis fenético de isoenzimas

Con la información obtenida de las isoformas de las enzimas, se construyó una tabla de caracteres de presencia y ausencia para cada una de las especies analizadas (Cuadro 8). Con base en lo anterior, se obtuvo la matriz con la información para 11 especies y un total de 35 caracteres codificados en forma binaria (presencia vs ausencia). Estos datos se emplearon para generar la matriz de similitud a partir del índice de Jaccard. Los coeficientes calculados se presentan en el Cuadro 11. El análisis de coeficientes de similitud permite establecer que las especies que muestran el mayor valor de similitud son *N. tetetzo* y *N. macrocephala*, con un 53.56% de similitud, seguidos por *N. mezcalaensis* y *N. multiareolata*, con 53.33% de similitud. En contraste, *Stenocereus stellatus*, muestra en general, coeficientes de similitud bajos con respecto a todo el género *Neobuxbaumia*.

El fenograma resultante (Figura 20) presenta una topología en la cual se agrupan las especies de *N. euphorbioides*, *N. macrocephala*, *N. tetetzo*, *N. squamulosa* y *Carnegiea gigantea*; en tanto que se forman otros dos grupos, donde se integran *N. mezcalaensis*, *N. multiareolata* y *N. scoparia*. Finalmente, las especies *N. polylopha* y *Stenocereus stellatus* muestran los valores más bajos de similitud y por tanto, se ubican fuera de la agrupación del género *Neobuxbaumia*.

**Cuadro 11. Matriz de coeficientes de similitud de caracteres de isoenzimas del género *Neobuxbaumia* y especies afines**

	<i>N. eupho</i>	<i>N. macro</i>	<i>N. mezca</i>	<i>N. poly</i>	<i>N. scopa</i>	<i>N. tetet</i>	<i>N. sanch</i>	<i>N. multi</i>	<i>N. squam</i>	<i>C. giga</i>	<i>S. stella</i>
<i>N. eupho</i>	1.0000										
<i>N. macro</i>	0.2941	1.0000									
<i>N. mezca</i>	0.3500	0.3571	1.0000								
<i>N. poly</i>	0.3333	0.2500	0.1905	1.0000							
<i>N. scopa</i>	0.3000	0.1250	0.4375	0.0909	1.0000						
<i>N. tetet</i>	0.4667	0.5556	0.3571	0.1965	0.2857	1.0000					
<i>N. sanch</i>	0.3000	0.2857	0.3529	0.2000	0.2222	0.2857	1.0000				
<i>N. multi</i>	0.2381	0.2000	0.5333	0.2000	0.4667	0.2000	0.2222	1.0000			
<i>N. squam</i>	0.3500	0.2667	0.2632	0.1905	0.3529	0.3571	0.2778	0.2778	1.0000		
<i>C. giga</i>	0.3810	0.2353	0.3000	0.2273	0.1905	0.2353	0.1905	0.3178	0.5294	1.0000	
<i>S. stella</i>	0.0870	0.2143	0.2222	0.2778	0.1053	0.1333	0.1053	0.1053	0.1000	0.0909	1.0000

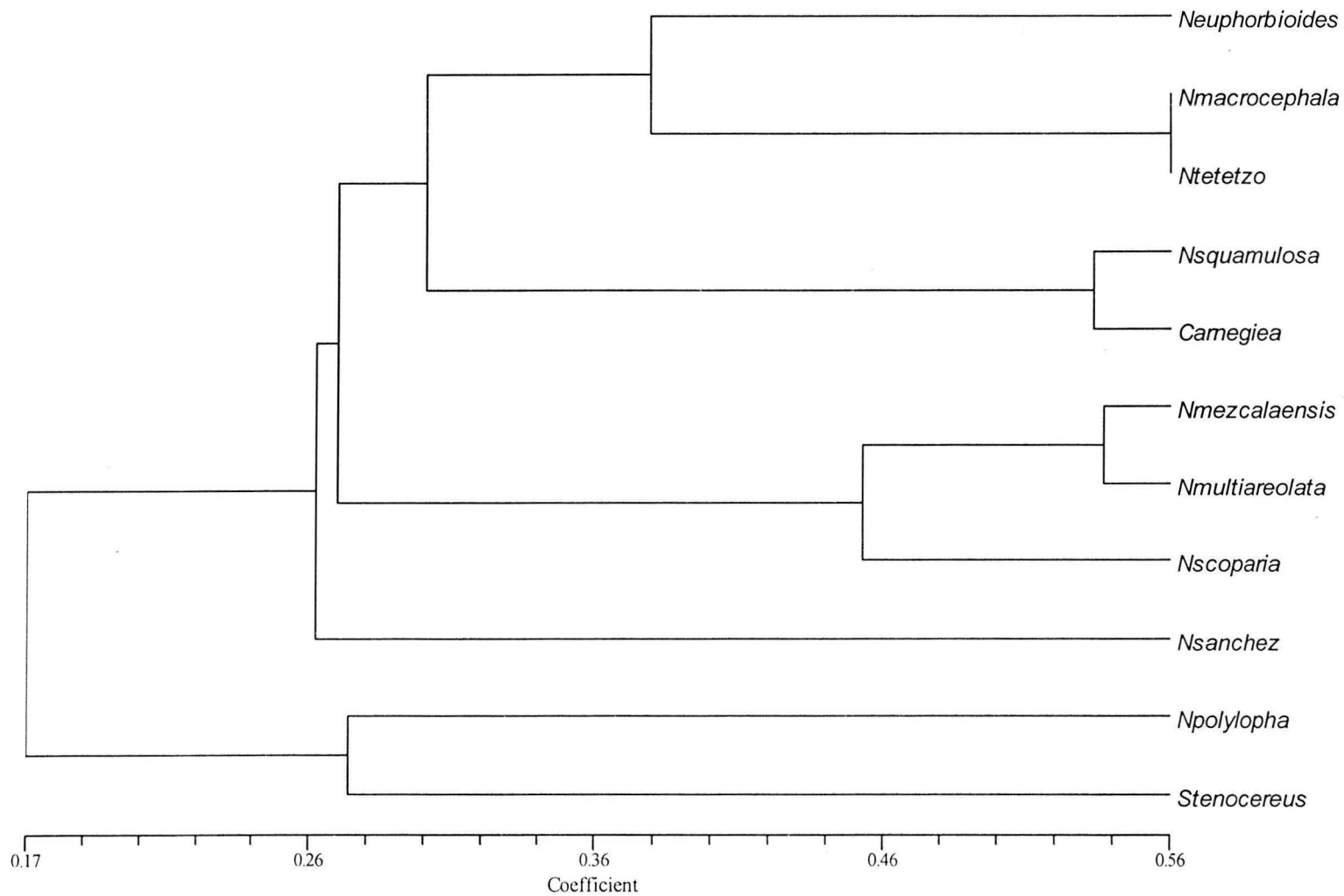


Figura 20. Fenograma de caracteres isoenzimáticos del género *Neobuxbaumia* y especies afines

#### 7.4.- Análisis fenético conjunto

Con los caracteres morfológicos, de alcaloides e isoenzimáticos, se integró una matriz de datos conjunta con los caracteres morfológicos de un individuo representativo de cada especie, los registros isoenzimáticos y los alcaloides para cada especie. A partir de lo anterior, se obtuvo una matriz de 11 OTUS y 115 caracteres, de los cuales 62 son caracteres morfológicos, 18 caracteres de alcaloides y 35 isoenzimáticos. La matriz obtenida fue utilizada para el cálculo de los coeficientes de similitud empleando el Índice de Correlación, eliminando caracteres invariantes.

La matriz de similitud obtenida fue utilizada para realizar el agrupamiento de los taxones empleando el algoritmo de UPGMA (Figura 21). El fenograma muestra una topología similar a las obtenidas con los análisis exclusivamente morfológicos, de alcaloides e isoenzimáticos, con respecto a la formación de los grupos de *N. tetetzo* y *N. macrocephala*. Por otro lado, *N. mezcalaensis* y *N. multiareolata* conforman un grupo de similitud que es consistente con el resultado de caracteres de isoenzimas. También se vuelve a presentar la agrupación entre *N. squamulosa* y *Carnegiea gigantea*. Finalmente, la similitud entre las especies de *N. euphorbioides*, *N. sanchezmejoradae* y *N. polylopha* presenta un fuerte efecto de los caracteres morfológicos para agruparse en este fenograma conjunto.

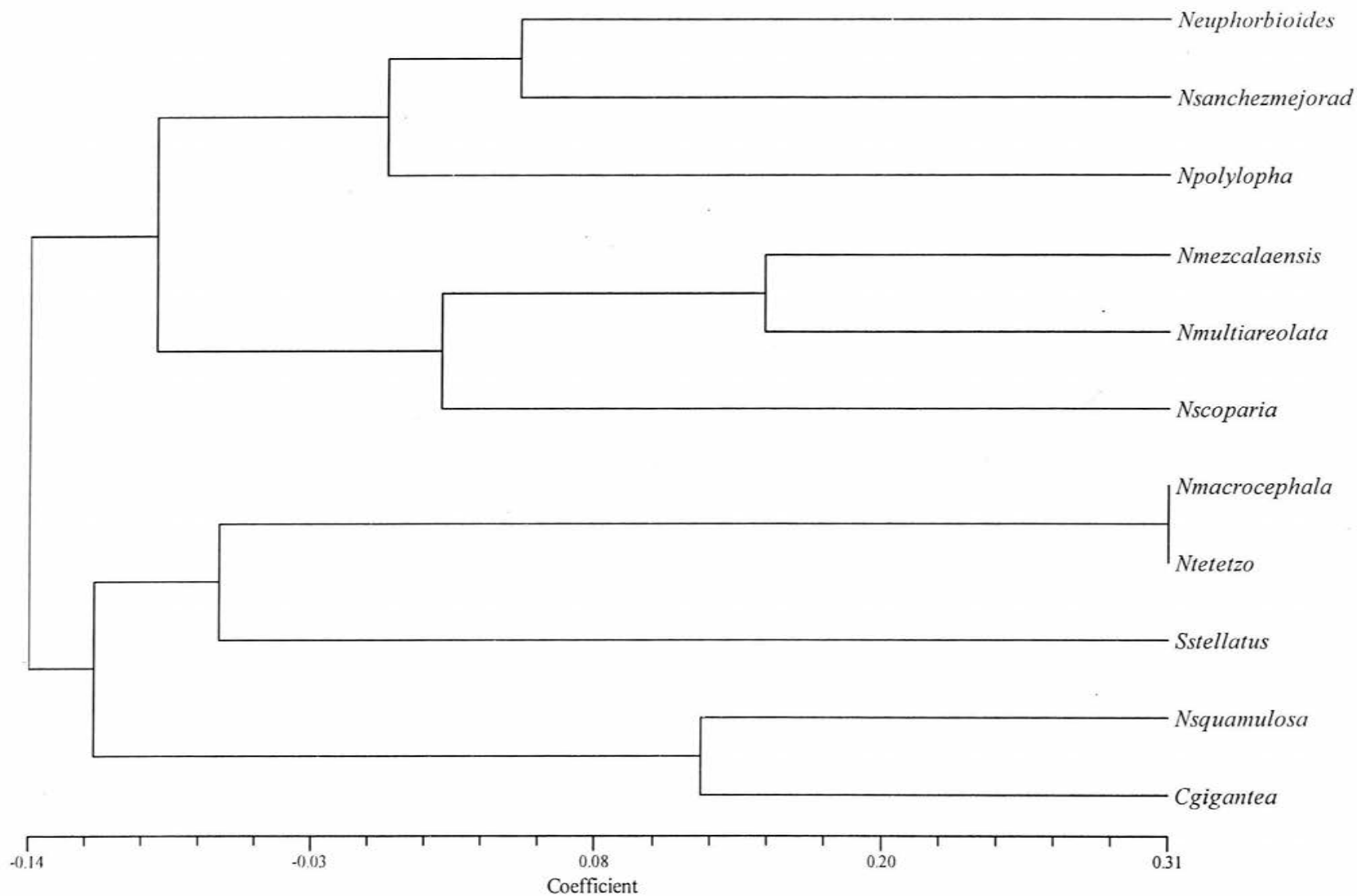


Figura 21. Fenograma de caracteres morfológicos, alcaloides e isoenzimáticos del género *Neobuxbaumia* y especies afines



### 7.5.- Dicusión del Estudio Fenético.

En relación al estudio de los caracteres morfológicos, en diferentes propuestas taxonómicas de muchas dicotiledóneas, se ha demostrado que las características vegetativas y sobre todo los caracteres de la morfología floral son claves en la delimitación de géneros y especies, sin embargo, en la mayoría de las especies de la tribu Pachycereeae, donde se incluye *Neobuxbaumia*, se presenta gran cantidad de paralelismos que se explican por la cercana relación con los polinizadores (Gibson y Nobel, 1986). En este sentido, los caracteres morfológicos empleados en el presente estudio, muestran poca resolución en la delimitación del género *Neobuxbaumia*. Como se demuestra en el estudio fenético conjunto realizado con los individuos, éstos son separados como grupos taxonómicos bien delimitados en especies; sin embargo, no se presenta una agrupación por similitud morfológica que permita separar a los géneros incluidos. Así, géneros como *Carnegiea*, *Cephalocereus*, *Pachycereus* y *Stenocereus*, muestran mayor similitud con *Neobuxbaumia*, incluso por encima de especies del mismo género.

No obstante lo anterior, el estudio fenético realizado con las diferentes fuentes de información generadas, permite observar que se dan agrupamientos consistentes entre ciertos grupos de especies; por ejemplo, *N. macrocephala* y *N. tetetzo*, las cuales presentan similitud en ocho caracteres de la morfología floral. Lo anterior puede ser discutido en función de la cercana distribución que presentan estas especies, por lo cual son expuestos a los mismos grupos de polinizadores y dispersores de semillas. Adicionalmente, estas especies comparten cuatro caracteres de isoenzimas: una fosfatasa, una esterasa y dos peroxidasas, lo cual puede reflejar las respuestas a condiciones medioambientales similares. En particular, con respecto a las peroxidasas, se ha demostrado que en *N. tetetzo* la actividad de las peroxidasas se relaciona con las condiciones de estrés lumínico y forman parte de una estrategia para la disminución de especies químicas activas que pueden generar radicales libres (Santiago, 2003).

Otro grupo que se forma consistentemente en el análisis fenético es el constituido por *N. mezcalaensis* y *N. multiareolata*, de las cuales *N. multiareolata* fue considerada en un inicio como una variedad de *N. mezcalaensis* (Bravo, 1932), en función de que comparten gran cantidad de caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos; sin embargo, estos taxones no se intercalan en el análisis fenético de todos los individuos (Figura 18), lo cual permite reconocerlos como grupos separados. Lo anterior se encuentra en concordancia con lo publicado previamente por Bravo *et al.*, (1972), quienes en un estudio del género *Neobuxbaumia* encontraron diferencias morfológicas de la flor, fruto y semilla que ameritaron el reconocimiento a nivel específico de *N. multiareolata*.

Por otro lado, el grupo de *N. squamulosa* y *Carnegiea gigantea* muestran agrupamiento en el análisis fenético conjunto, en función de que presentan similitud en caracteres reproductivos y comparten un total de nueve isoenzimas: una fosfatasa, seis esterases y dos peroxidasas. No obstante lo anterior, la presencia de alcaloides en las dos especies es contrastante, ya que en *N. squamulosa* no se detecta la presencia de tetrahidroisoquinolinas, en tanto que, en *Carnegiea gigantea* se presentan diez alcaloides (Cuadro 7). Cabe mencionar que *N. squamulosa* era considerada variedad de *N. mezcalaensis* según Bravo (1978), y en el presente trabajo el análisis fenético morfológico concuerda con lo anterior; sin embargo, el estudio de las isoenzimas permitió separar esta especie del grupo de *mezcalaensis*.

Con respecto al grupo que forman *N. euphorbioides*, *N. sanchezmejoradae* y *N. polylopha*, cabe mencionar que los caracteres de similitud que determinan dicho agrupamiento son la ausencia de tetrahidroisoquinolinas y en particular, para *N. euphorbioides* y *N. polylopha* el hecho de compartir siete isoenzimas, de las cuales tres son esterases y cuatro peroxidasas.

El estudio fenético realizado en este trabajo permite establecer en general que las especies analizadas forman grupos homogéneos bien diferenciados, con lo cual

se pueden tomar como base para la circunscripción inicial de las especies del género. Con base en este primer resultado, se llevó a cabo la segunda parte de este trabajo que consistió en el análisis cladístico del género *Neobuxbaumia* para poder hacer una propuesta sobre las relaciones filogenéticas del género y sus especies.

## 8.- ESTUDIO CLADÍSTICO

En esta segunda parte se presenta el análisis cladístico del género *Neobuxbaumia* y sus especies. El enfoque que se aplica es de evidencia total e incluye los datos obtenidos de la revisión de caracteres morfológicos, de alcaloides y de isoenzimas. El propósito es evaluar la monofilia del género *Neobuxbaumia* y determinar las relaciones filogenéticas de sus especies.

Los taxa seleccionados para este análisis incluyen las nueve especies reconocidas para el género *Neobuxbaumia*, más cuatro especies de la subtribu Pachycereinae: *Carnegiea gigantea*, *Pachycereus fulviceps*, *Pachycereus hollianus* y *Pachycereus weberi*, que en conjunto forman al grupo interno. Además se incluye una especie de la subtribu Stenocereinae *Stenocereus stellatus*, la cual fue seleccionada como grupo externo en base a las evidencias morfológicas y moleculares (Cornejo y Simpson, 1997; Cota y Wallace, 1997; Gibson y Horak, 1978; Terrazas y Loza-Cornejo, 2002).

### 8.1.- Argumentación de caracteres usados en el estudio cladístico

#### 8.1.1.- Caracteres morfológicos

Con respecto a la morfología, se llevó a cabo una selección de caracteres con base en estudios previos de filogenia de especies de la Tribu Pachyceereae basadas en morfología (Arreola, 2000; Arias, 2002; Terrazas y Loza-Cornejo, 2002). En el Cuadro 12, se presentan los caracteres seleccionados para el análisis de parsimonia y sus respectivos estados de carácter. Los estados de carácter para el género *Neobuxbaumia*, géneros hermanos y grupo externo seleccionado se presentan en el Cuadro 13.

**Cuadro 12. Lista de caracteres morfológicos y sus estados de caracter empleados en el estudio de parsimonia.**

No.	Caracteres	Codificación		
		0	1	2
0	Hábito	Columnar	Ramificado	Candelabriforme
1	Tipo de ramificación	Sin ramificación	Basitono	Mesotono
2	Pseudocefálio	Presente	Ausente	
3	Depresiones interareolares	Ausente	Presente	
4	Lana en areolas	Presente	Ausente	
5	Tipos de areolas	Indeterminadas	Determinadas	
6	Dimorfismo areolar	Monomorfas	Dimorfas	
7	Ubicación de las flores	Longitudinal	Mitad superior	Apical
8	Hábito de apertura	Nocturno	Mixto	Diurno
9	Forma de la flor	Campanulada	Infundibuliformes	Infund/camp
10	Espinas en el pericarpelo	Presente	Ausente	
11	Escamas en los podarios pericarpelares	Presente	Ausente	
12	Podarios en el tubo receptacular	Presente	Ausente	
13	Escamas en los podarios receptaculares	Presente	Ausente	
14	Espinas en los podarios receptaculares	Presente	Ausente	
15	Nectarios extraflorales en el tubo	Ausente	Presente	
16	Cámara nectarial	Abierta	Cerrada	
17	Cristales de oxalato de calcio	Ausentes	Presentes	

Cuadro 13. Estados de carácter morfológico del género *Neobuxbaumia* y grupo externo incluidos en el estudio de parsimonia

TAXA	CARÁCTER																	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>S. stellatus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
<i>N. euphorbioides</i>	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1
<i>N. macrocephala</i>	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1
<i>N. mezcalaensis</i>	1	1	0	1	1	1	0	2	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1
<i>N. multiareolata</i>	1	1	0	1	0	1	0	2	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1
<i>N. polylopha</i>	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1
<i>N. sanchezmejoradae</i>	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1
<i>N. scoparia</i>	2	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1
<i>N. squamulosa</i>	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1
<i>N. tetetzo</i>	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1
<i>C. gigantea</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1
<i>P. fulviceps</i>	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1
<i>P. hollianus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1
<i>P. weberi</i>	2	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	1	1	1		0	0	1

### 8.1.2.- Caracteres de alcaloides

Los caracteres de alcaloides se codificaron de acuerdo a los métodos que suponen que la evolución del carácter es la ruta biosintética, en la cual las enzimas que catalizan la última etapa de una ruta, necesariamente evolucionan a partir de las enzimas que llevan a cabo las transformaciones previas (Barkman, 2001). Lo anterior asume que los pasos enzimáticos novedosos sólo evolucionan integrados en el contexto de una ruta metabólica existente.

El procedimiento descrito se aplicó en la codificación de los datos obtenidos en el estudio de alcaloides presentes en las especies del género *Neobuxbaumia* (Flores *et al.*, 2003), y los que han sido publicados en las especies de los grupos aquí incluidos (Cuadro 7).

Para la construcción de la ruta de relaciones biosintéticas de los alcaloides presentes, se partió de los estudios de biosíntesis realizados en este grupo de metabolitos. Se ha demostrado que el precursor inicial de la síntesis de tetrahidroisoquinolinas es la tirosina, la cual es descarboxilada para rendir tiramina (Fucchini *et al.*, 2000) y sufre una hidroxilación en posición *orto* para rendir dopamina. Posteriormente, procesos enzimáticos que involucran hidroxilaciones, metilaciones y ciclizaciones, producen los derivados terminales de cada una de las rutas (Paul, 1973). Una de las rutas establecidas mediante el uso de trazadores isotópicos de precursores de tetrahidroisoquinolinas, muestra que la dopamina es metilada en la posición C-6 y uno de sus conformeros da lugar a la lemairocerina cuando el anillo fusionado se cicla con ácido glioxílico, o bien rinde arizonina cuando se cicla con ácido pirúvico (Chalet, 1980). Asimismo, se ha propuesto que la anhalidina se produce a partir de dopamina en una serie de pasos que involucran la metilación, metoxilación, cierre del ciclo con ácido glioxílico y un paso final de N-metilación mediado por metionina (Paul, 1973). Un proceso similar al descrito anteriormente, se presenta en la biosíntesis propuesta para pelotina, en el cual el anillo se cierra con piruvato para rendir anhalonidina y

una posterior N-metilación para producir la pelletina (Chalet, 1980). Por otro lado, se ha demostrado la biosíntesis de carnegina a partir de dopamina, la cual es metilada y ciclizada mediante piruvato para rendir salsolidina y finalmente N-metilada para generar la carnegina (Bruhn y Lundstrom, 1976). En esta misma prolongación de la ruta, la salsolidina es hidroxilada en la posición C-5 y metilada en el nitrógeno tetrahidroisoquinolinico para producir la gigantina. Cabe mencionar que esta sustitución de hidroxilo en posición C-5 de tetrahidroisoquinolinas, es una característica única que sólo se presenta en la gigantina y los alcaloides nortehuanina y tehuana.

Para la asignación de la posición relativa de los alcaloides que no han sido caracterizados en su ruta de síntesis, se siguieron las generalizaciones siguientes: el anillo se cierra con ácido glioxílico o ácido pirúvico; la hidroxilación en la posición C-5 ocurre cuando el anillo fue cerrado; la metilación en el nitrógeno es la última etapa de la biosíntesis.

Con base en la argumentación previa, se estableció la posición relativa que guardan los alcaloides analizados en el presente trabajo, la cual se puede observar en la Figura 23, donde las rutas de biosíntesis hasta un derivado terminal fueron consideradas como caracteres y las posiciones relativas de cada uno de sus intermediarios como estados de carácter. En esta Figura, se presenta un esquema de codificación con diez caracteres indicados con letras. Así el carácter A finaliza con la obtención de weberina, B con lemairocerina, C con arizonina, D con N-metilheliamina, E con tehuana, F con carnegina, G con gigantina, H con anhalidina, I con weberina y J con pelletina. La matriz de datos correspondiente a la codificación de caracteres de alcaloides se puede observar en el Cuadro 14. En este Cuadro se muestran los estados de carácter de cada especie de acuerdo a los alcaloides que presentan y la posición relativa de éstos en la ruta de biosíntesis propuesta.



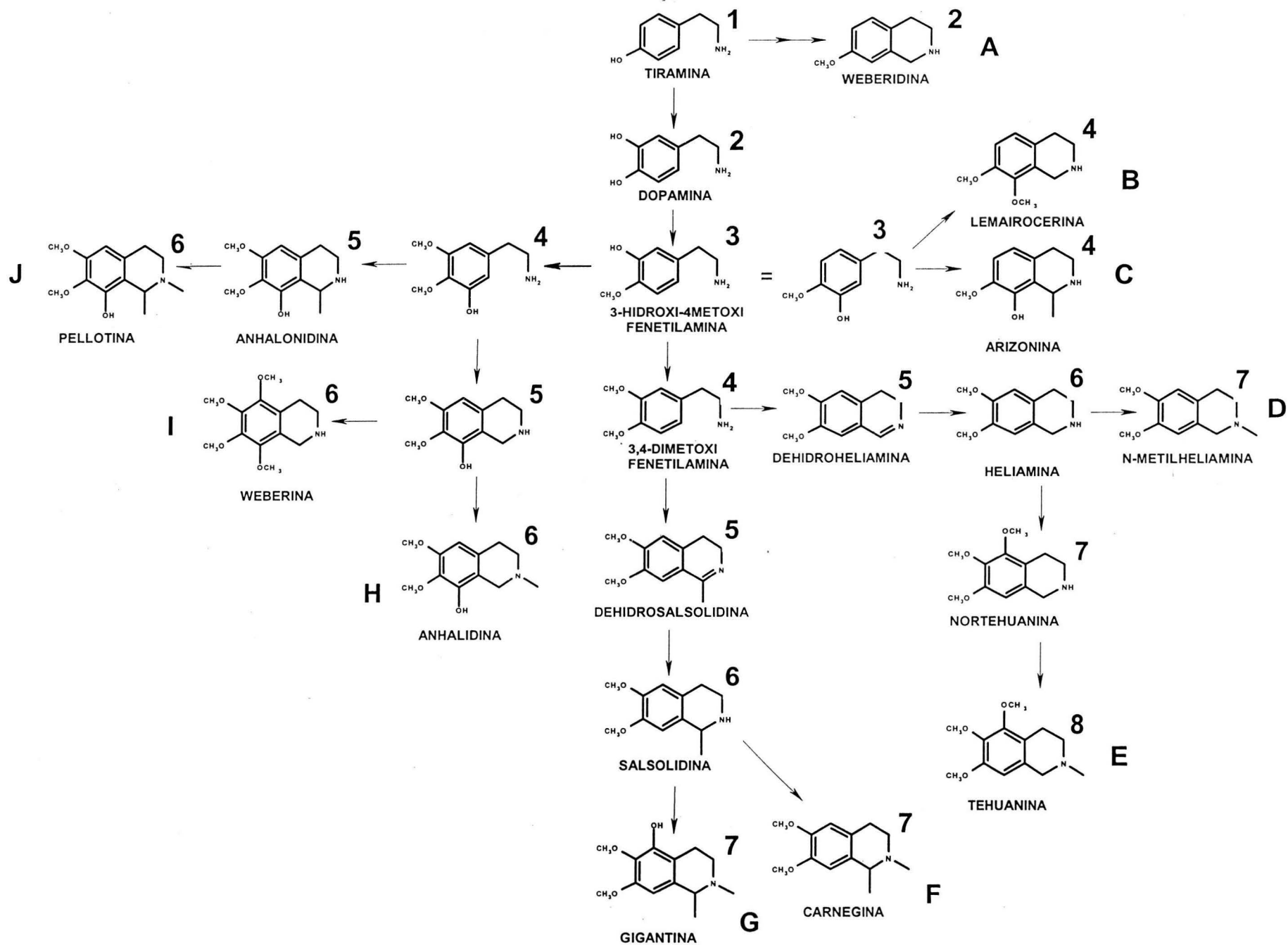


Figura 23. Relaciones biosintéticas de los alcaloides presentes en *Neobuxbaumia* y grupos afines

**Cuadro 14. Estados de caracteres de alcaloides presentes en *Neobuxbaumia* y grupos afines usados en el estudio de parsimonia**

Especie	Carácter									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
<i>S. stellatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>N. euphorbioides</i>	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>N. macrocephala</i>	1	3	3	4	4	6	6	6	5	4
<i>N. mezcalaensis</i>	1	3	3	6	6	4	4	3	3	3
<i>N. multiareolata</i>	1	3	3	4	4	6	6	6	5	4
<i>N. polylopha</i>	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>N. sanchezmejoradae</i>	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>N. scoparia</i>	1	3	3	4	4	6	6	6	5	4
<i>N. squamulosa</i>	1	3	3	4	4	4	4	3	3	3
<i>N. tetetzo</i>	1	3	3	4	4	6	6	6	5	4
<i>C. gigantea</i>	1	3	4	6	8	7	6	3	3	3
<i>P. fulviceps</i>	1	3	3	4	6	4	4	3	3	3
<i>P. hollianus</i>	1	3	3	4	4	6	4	3	6	4
<i>P. weberi</i>	2	4	3	7	8	6	4	5	6	6

### 8.1.3.- Isoenzimas

Los caracteres de isoenzimas han sido empleados en estudios taxonómicos en diferentes familias como Poaceae (Duvall y Biesboer, 1989), Cucurbitaceae (Pahsa y Sen, 1991) y Fabaceae (Misset y Fontenelle, 1992). En particular, en la familia Cactaceae se ha demostrado que este tipo de caracteres son útiles en estudios taxonómicos y filogenéticos, y son estables e independientes de factores espaciales y medioambientales (Carreras *et al.*, 1996). Con base en lo anterior, los caracteres de isoenzimas obtenidos en el presente trabajo (Cuadro 8), fueron codificados en forma binaria de ausencia vs presencia. Cabe mencionar que para las especies *Pachycereus fulviceps*, *P. hollianus* y *P. weberi* no se obtuvieron semillas viables para germinar y por tanto este grupo de datos se codificó como indeterminado en el análisis de parsimonia posterior.

### 8.2.- Análisis cladístico de evidencia total

Los datos de caracteres morfológicos, alcaloides y de isoenzimas fueron empleados para la construcción de una matriz de datos combinada. Dicha matriz está constituida por 18 caracteres morfológicos (Cuadro 12), 10 caracteres de alcaloides (Cuadro 14), y 32 de isoenzimas (Cuadro 8). Se realizó un análisis cladístico utilizando el algoritmo de parsimonia mediante el programa WINCLADA 1.00.08 (Nixon, 2002) y NONA Ver 2 (Goloboff, 1999). Se utilizó una búsqueda heurística de 1000 réplicas, intercambiando ramas mediante TBR. A partir de lo anterior, se obtuvo un único cladograma de 163 pasos, con un índice de consistencia de 0.52 y un índice de retención de 0.45. El cladograma resultante se muestra en la Figura 24, para el cual se realizó una optimización de caracteres sin ambigüedades, mismo que muestra colapsados los nodos que no tienen soporte.

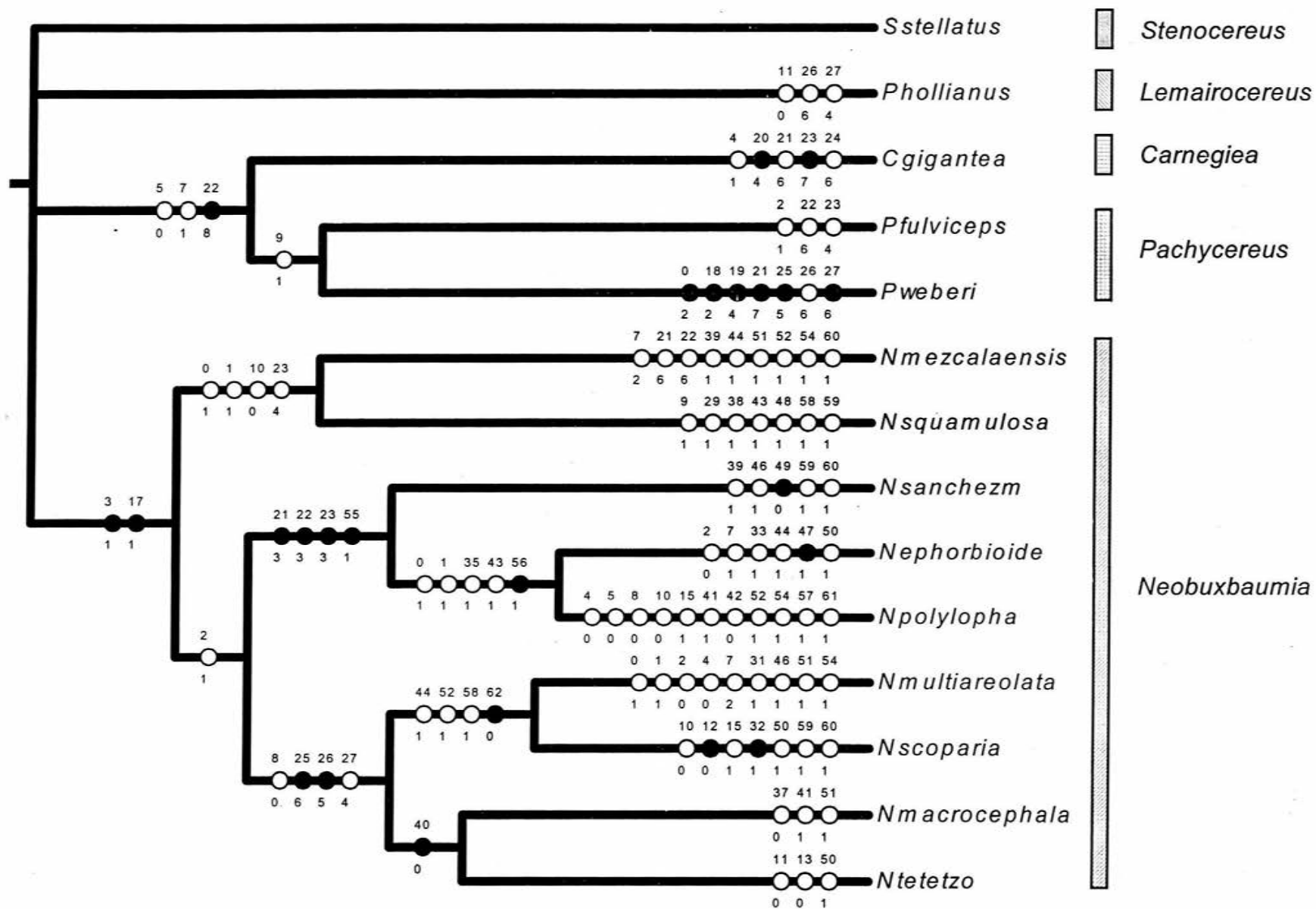


Figura 24. Cladograma de caracteres morfológicos, alcaloides e isoenzimáticos empleados en el estudio de parsimonia del género *Neobuxbaumia*. Círculos cerrados sinapomorfías, círculos abiertos homoplasias. Las barras agrupan a los géneros que se reconocen en este análisis.

Cabe mencionar que se llevó a cabo la prueba de confianza de bootstrap con intercambio de ramas mediante TBR y con 10,000 réplicas y solamente se resuelve el clado de *N. macrocephala* y *N. tetetzo* con un 60% de confianza.

La monofilia del género se apoya por sinapomorfías de caracteres, en tanto que al interior de este clado los nodos siguientes son recuperados por sinapomorfías de alcaloides y los clados terminales por sinapomorfías de isoenzimas.

A partir del cladograma de la Figura 24, se puede observar que el género *Neobuxbaumia* se resuelve como un grupo monofilético, separado de los géneros hermanos del grupo interno, de los cuales *Pachycereus hollianus* se muestra como un taxon que no se agrupa con el género *Pachycereus*, en tanto que se resuelve un clado para *Carnegiea gigantea*, *Pachycereus fulviceps* y *Pachycereus weberi* definidos por la sinapomorfía “presencia de la tetrahidroisoquinolina tehuanaína” (carácter 22).

Las sinapomorfías que definen al género *Neobuxbaumia* como monofilético son “depresiones interareolares” (carácter 3) y “cámara nectarial cerrada” (carácter 17). Al interior del género, se puede observar la separación de un grupo formado por *N. mezcalaensis* y *N. squamulosa*, mientras que las especies restantes son separadas en dos clados, el primero de ellos constituido por *N. sanchezmejoradae*, *N. euphorbioides* y *N. polylopha* soportado por cuatro sinapomorfías; estas especies comparten las sinapomorfías de estado de carácter 3 para los caracteres 21, 22 y 23, los cuales corresponden a las rutas de biosíntesis de tehuanaína, carnegina y gigantina respectivamente. Adicionalmente, este primer clado presenta la sinapomorfía de presencia de una peroxidasa (carácter 55). Asimismo, se puede observar la formación de un clado terminal constituido por *N. euphorbioides* y *N. polylopha*, las cuales presentan la presencia de una peroxidasa (carácter 56).

El otro clado en el género *Neobuxbaumia* se constituye por *N. multiareolata*, *N. scoparia*, *N. macrocephala* y *N. tetetzo*, las cuales se resuelven por dos sinapomorfías, la presencia de la tetrahidroisoquinolina anhalidina (carácter 25) y el estado de carácter 5 en la ruta de biosíntesis de la weberina (carácter 26). Adicionalmente, al interior de este clado se observa la resolución de dos clados terminales, uno de ellos formado por *N. multiareolata* y *N. scoparia*, las cuales presentan la sinapomorfía “ausencia de una peroxidasa” (carácter 62), en tanto que el otro clado terminal relaciona a *N. macrocephala* y *N. tetetzo*, las cuales presentan la sinapomorfía de ausencia de una isoenzima de esterasa (carácter 40), la cual se encuentra presente en los otros taxones estudiados.

### 8.3 – Discusión del estudio cladístico

La descripción taxonómica del género *Neobuxbaumia*, ha sido discutida en diferentes trabajos donde se han empleado principalmente caracteres morfológicos en su enfoque (Bravo *et al.*, 1970; Bravo *et al.*, 1971a; 1971b; Bravo *et al.*, 1973; Bravo, 1978; Lau, 1994). En contraste, en el presente trabajo se revisan los caracteres morfológicos y se complementan con caracteres químicos de alcaloides e isoenzimas, lo cual permite establecer una propuesta integral de la filogenia del grupo.

Con base en el cladograma de evidencia total se reconoce al género *Neobuxbaumia* como un grupo monofilético. El resultado anterior es consistente con los resultados obtenidos en un estudio de filogenia del género *Pachycereus* (Arias *et al.*, 2003), en el cual se muestra al género *Neobuxbaumia* como un grupo monofilético y los cladogramas que se presentan son congruentes con los obtenidos en este trabajo, particularmente en la formación de los clados entre *N. euphorbioides* y *N. polylopha*, y separación de *Pachycereus hollianus* del género *Pachycereus*.

Las sinapomorfias que definen la monofilia del género *Neobuxbaumia* son “depresiones interareolares” y “cámara nectarial cerrada”. La estructura en forma de diafragma que cierra la cámara nectarial puede ser discutida como una novedad evolutiva en función de dos factores. El primero de ellos se refiere a la composición química del néctar, la cual ha sido descrita para distintas cactáceas (Santos, 2002), en este trabajo se refiere que las muestras de néctar de especies de *Neobuxbaumia* registran valores elevados de monosacáridos, en contraste con las especies de *Pachycereus* que presentan valores elevados de disacáridos. En este sentido, se sabe que los monosacáridos confieren presiones de vapor mayor en los néctares (Flores *et al.*, 2002), con lo cual la solución eventualmente tiende a cristalizar disminuyendo su utilidad como premio a los polinizadores, por lo tanto, una cámara nectarial cerrada puede disminuir este efecto de evaporación del nectar. En otro sentido, la estructura cerrada de la cámara nectarial puede discutirse en función de la barrera que presenta para evitar la pérdida de néctar por especies inespecíficas de polinizadores. Estudios de polinización en el Valle de Tehuacán han revelado que las especies *Pachycereus weberi*, *N. mezcalaensis*, *N. tetetzo* y *N. macrocephala* son polinizadas por murciélagos (Valiente-Banuet *et al.*, 1996; 1997a,b) y por tanto esta barrera puede ser una adaptación para la selección de este tipo de polinizador.

Con respecto a los caracteres de alcaloides, se puede discutir que los estados apomórficos que recuperan al grupo interno son la ruta común de biosíntesis que lleva hasta la 3,4-dimetoxifenetilamina. En este sentido, se ha demostrado que las formas de alcaloides predominantes en los grupos más primitivos de cactáceas son del tipo de  $\beta$ -fenetilaminas, en tanto que las tetrahydroisoquinolinas se presentan en la subfamilia Cactoideae y particularmente en la subtribu Pachycereinae (Mata y MacLauplin, 1982). A partir de esta ruta ancestral, se derivan los géneros presentando novedades evolutivas que se reflejan en la continuación de esta ruta común. Para el caso de las especies del género *Neobuxbaumia* que presentan tetrahydroisoquinolinas, se prolonga la ruta común hasta la obtención de salsolidina y carnegina, y por otro lado hasta anhalidina.

Los alcaloides presentes en las especies del género *Neobuxbaumia*, indican que *N. multiareolata*, *N. scoparia*, *N. tetetzo* y *N. macrocephala* están íntimamente relacionadas son de reciente origen en el género, ya que los alcaloides que presentan son estados apomórficos de los caracteres en la ruta de biosíntesis. Por otro lado, *N. mezcalaensis* y *N. squamulosa* en un clado basal del género, se explica por los estados plesiomórficos que presentan los alcaloides que contienen.

Las relaciones filogenéticas que se derivan del presente trabajo para el género *Neobuxbaumia* indican que, los taxones más primitivos del grupo son *N. mezcalaensis* y *N. squamulosa*. Posteriormente, se observa una separación de dos clados, el primero de ellos contiene a *N. sanchezmejoradae* como un taxon basal de este grupo y al clado posterior integrado por *N. euphorbioides* y *N. polylopha*. El segundo grupo contiene a las especies *N. multiareolata*, *N. scoparia* recuperadas en un clado y a *N. macrocephala* y *N. tetetzo* en un segundo clado de reciente formación.

Por otro lado, el caso de *Pachycereus hollianus*, se puede discutir su posición basal en el cladograma en función de que los alcaloides que presenta en sus tejidos, son estados plesiomórficos en las rutas de biosíntesis de carnegina y gigantina y apoyan la propuesta de Arias et al. (2003). En tanto *Carnegiea gigantea* y *Pachycereus weberi* muestran los estados más derivados en siete de las diez rutas de biosíntesis propuestas. Cabe mencionar que para el caso de *Carnegiea gigantea* las etapas terminales de síntesis de arizonina y gigantina son autoapomorfías del género, mientras que para *Pachycereus weberi* las etapas terminales de síntesis de tehuanaína y weberidina son autoapomorfías de esta especie.

En general, se puede observar que las especies *Pachycereus weberi* y *Carnegiea gigantea* muestran un mayor avance evolutivo en la producción y tipo de tetrahidroisoquinolinas, sin embargo, la inspección detallada de los alcaloides que



presenta cada especie permite reconocer un patrón de sustitución química que es característico para cada grupo. En el caso de *Pachycereus weberi* de las diez tetrahydroisoquinolinas presentes, sólo tres se encuentran metiladas en la posición C-1, en tanto que, en *Carnegiea gigantea*, cuatro de las cinco tetrahydroisoquinolinas se encuentran metiladas en la posición C-1. La distribución de formas químicas descritas se puede explicar en términos de la mayor acumulación que se observa de alcaloides con metilación de posición C-1 en estaciones frías o climas templados (Bruhn y Lindgreen, 1976), tal es el caso de *Carnegiea gigantea*, la cual se distribuye en el Desierto Sonorense, donde los inviernos alcanzan temperaturas más bajas.

La acumulación de alcaloides en estas especies, se puede discutir bajo una perspectiva evolutiva, con relación a los efectos fisiológicos que producen estos compuestos y las interacciones ecológicas que determinan. Se sabe que los alcaloides se acumulan en los tejidos como una forma de defensa en contra de herbívoros y patógenos (Caporale, 1995). En el caso particular de las tetrahydroisoquinolinas presentes en *Carnegiea gigantea*, se ha establecido que disminuyen la viabilidad de larvas, la tasa de crecimiento y la longevidad de diferentes especies de moscas terrestres del género *Drosophila* (Meyer y Fogleman, 1987). Tomando en cuenta lo anterior, es posible suponer que la interacción ecológica que se presenta en las especies estudiadas es diferente, ya que la exposición a diferentes tipos de herbívoros y patógenos, determinaría la acumulación de diferentes tipos de alcaloides.

Con respecto a la distribución geográfica del género *Neobuxbaumia* y su relación con el proceso de especiación que ha ocurrido en este grupo, se ha propuesto una hipótesis sobre la filogenia de toda la tribu Pachycereae (Gibson *et al.*, 1986), en la cual, con base a los caracteres morfológicos y fitoquímicos de los géneros de la tribu, se sugiere que la especiación de este grupo de cactáceas se ajusta a un modelo alopátrida, en donde las especies que se encuentran más hacia el norte son los grupos más derivados y probablemente de origen más reciente. En este

sentido, las especies del género *Neobuxbaumia* que presentan una distribución más norteña, como *N. euphorbioides* y *N. polylopha*, serían los candidatos para proponerlos como taxones de más reciente formación.

A partir de las relaciones filogenéticas de las especies descritas en este trabajo, se observa que existe una estrecha relación con su distribución geográfica. El caso más evidente es el de las especies *N. tetetzo* y *N. macrocephala*, las cuales presentan una distribución cercana en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Por otro lado, llama la atención la posición basal relativa dentro del género *Neobuxbaumia* de *N. mezcalaensis*, ya que esta especie alcanza la distribución más amplia, la cual se sobrelapa con *N. squamulosa* en el estado de Jalisco, con *N. sanchezmejoradae* en Oaxaca y con *N. multiareolata* en Guerrero, y con *N. macrocephala* y *N. tetetzo* en los estados de Puebla y Oaxaca.

El esquema de relaciones filogenéticas descrito en este trabajo apoya en forma general, la especiación alopátrida propuesta para este tipo de cactáceas columnares (Gibson *et al.*, 1986), ya que *N. mezcalaensis* es una de las especies con distribución más al sur del territorio y se muestra como un taxon primitivo con respecto a otros clados del género *Neobuxbaumia*, mientras especies como *N. euphorbioides* y *N. polylopha* son de distribución más norteña y ambas conforman un clado términal en el género.

Con respecto a la circunscripción de los géneros de *Neobuxbaumia* y *Carnegiea*, se puede determinar, con base en los resultados obtenidos en este trabajo, que son dos grupos diferentes, siendo *Carnegiea* más emparentada con el género *Pachycereus*. Estos resultados son congruentes con los obtenidos por Arias, *et al.* (2003), quienes colocan a *Carnegiea* como un grupo hermano de *Pachycereus*.

Finalmente, el presente trabajo muestra las ventajas de incorporar en los estudios de filogenia a los caracteres fitoquímicos, las cuales, los cuales al ser interpretados en un contexto de relaciones biosintéticas, permite determinar las

relaciones de ancestría de las especies, así como reconocer la aparición de novedades evolutivas en este tipo de especies.

## 8.- CONCLUSIONES

Con base en los dos estudios que componen a este trabajo se pueden establecer las siguientes conclusiones:

- Los caracteres morfológicos de “depresiones interareolares” y “cámara necarial cerrada” definen al género *Neobuxbaumia* como un grupo monofilético.
- Los caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos de las especies del género *Neobuxbaumia* presentan gran cantidad de convergencias y paralelismos.
- De las nueve especies del género *Neobuxbaumia*, sólo se presentan alcaloides del tipo tetrahydroisoquinolinas en *N. macrocephala*, *N. mezcalaensis*, *N. multiareolata*, *N. scoparia* y *N. tetetzo*.
- *Carnegiea gigantea* y *Pachycereus weberi* presentan los alcaloides más derivados de la ruta de biosíntesis de tetrahydroisoquinolinas.
- La filogenia del género *Neobuxbaumia* es de tipo alopátrida, en la cual las especies distribuidas más hacia el norte del país son las de origen más reciente.
- *Carnegiea gigantea* es un taxon diferente de *Neobuxbaumia* y con base en los datos disponibles, *Carnegiea gigantea* es un taxon hermano del género *Pachycereus*.

## 10.- BIBLIOGRAFIA

- Agurell, S. 1969. Cactaceae alkaloids I. *Lloydia* **32**: 206-215.
- Arias, S. 1993. Cactáceas: conservación y diversidad en México. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* **44**: 109-115.
- Arias, S. 2002. Filogenia del genero *Pachycereus* (Pachycereae, Cactaceae). Tesis de Doctorado. Colegio de Posgraduados, México.
- Arias, S.; Gama S.; Guzmán-Cruz. U. 1997. Cactaceae. In: P. Dávila *et al.* (eds.) Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascilulo 14. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- Arias, S.; Terrazas, T.; Cameron, K. 2003. Phylogenetic analysis of *Phacycereus* (Cactaceae, Pachycereae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Sys. Bot.* **28**: 547-557.
- Arreola, H.I. 2000. Sistemática de las especies de *Stenocereus* (A. Berger) Riccob. con areolas morenas (Cactoideae: Cactaceae). Tesis de Maestría del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. Méx.
- Backeberg, C. 1938. Blatter fur Kakteenforschung. *Bulletin Cactus Research.* **8**. 21.
- Backeberg, C. 1960. Die Cactaceae. Vol. 3. Gustav Fischer-Verlag, Jena.
- Barkman, T.J. 2001. Character coding of secondary chemical variation for use in phylogenetic analysis. *Biochem. Sys. and Ecol.* **29**: 1-20
- Barthlott, W.; Hunt, D.R. 1993. Cactaceae. En: K. Kubitzki (ed.) The families and genera of vascular plants. Springer-Verlag. Berlin. pp. 161-197.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of micro quantities of protein. *Anal. Biochem.* **72**:248.
- Bravo, H. 1932. Contribución al conocimiento de las cactáceas del estado de Guerrero. Cactáceas del Cañon del Zopilote. *Anal. Inst. Biol.* **3**: 383
- Bravo, H.,; Scheivar, L.; Sanchez-Mejorada, H. 1970. Estudio comparativo del género *Neobuxbaumia*, *Neobuxbaumia polylopha*. *Cact. y Suc. Mex.* **XV**: 75-82.

- Bravo, H.; Scheinvar, L.; Sanchez-Mejorada, H. 1971a. Estudio Comparativo del género *Neobuxbaumia* Backberg. II *Neobuxbaumia macrocephala* (Web) Daws. *Cact. y Suc. Mex.* **XVI**: 3-14.
- Bravo, H.; Scheinvar, L.; Sanchez-Mejorada, H. 1971b. Estudio Comparativo del género *Neobuxbaumia* Backberg. III *Neobuxbaumia scoparia* (Poselg) Backbg. *Cact. y Suc. Mex.* **XVI**: 75-83.
- Bravo, H.; Scheinvar, L.; Sanchez-Mejorada, H. 1973. Estudio Comparativo del género *Neobuxbaumia*. IV *Neobuxbaumia multiareolata*. *Cact. y Suc. Mex.* **XVIII**:59-67.
- Bravo, H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. I. UNAM. México, pp. 635-661
- Britton, N.L.; Rose, J.N. 1919-23. The Cactaceae. 4 Vol. Washington, D.C. Carnegie Institution.
- Bruhn, J.G.; Lindgrees, J.E. 1976. *Lloydia* **39**:175-177.
- Buxbaum, F. 1957. Gattung *Neobuxbaumia*. In: H. Kraits (ed.). Die Kakteen C III.
- Caporale, L.H. 1995. Chemical ecology: a view from the pharmaceutical industry. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **92**:75-82
- Carreras, M.; Fuentes, E.; Merino, E. 1997. Seed protein patterns of nine species of Cactaceae. *Biochem Sys. and Ecol.* **25**: 43-49.
- Cornejo, D.; Simpson, B. 1997. Analysis of form and function in north american columnar cacti (Tribe Pachycereae). *Am. J. of Bot.* **84**: 1482-1501.
- Cota, J.H. 1996. La citología y la sistemática molecular en la familia Cactaceae. *Cact. Suc. Mex.* **41**: 27-43.
- Cota, J.H., Philbrick, C. T. 1994. Chromosome number variation and polyploidy in the genus *Echinocereus* (Cactaceae). *Amer. J. Bot.* **81**: 1054-1062.
- Cota, J.H.; Wallace, R.S. 1997. Chloroplast DNA evidence for divergence in *Ferocactus* and its relationships to North American columnar cacti (Cactaceae: Cactoideae). *Sys. Bot.* **22**: 529-542.
- Crisci, J.V.; Lopez, M.F. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. OEA, Washington, D.C. 131 pp.

- Danielson, P.; Frank, M.; Fogleman, J. 1994. Comparison of larval and adult P-450 activity levels for alkaloid metabolism in desert *Drosophila*. *J. Chem. Ecol.* **20**: 1893-1906.
- Danielson, P.; MacIntyre, R.; Fogleman, J. 1997. Molecular cloning of a family of xenobiotic-inducible drosophilid cytochrome P450s: Evidence for involvement in host-plant allelochemical resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94**: 10797-10802.
- Dávila, P.; Arias, S.; Lira, R. 2002. Phytogeography of columnar cacti (Tribe Pachycereeae). En *Columnar cacti and their mutualists*. The University of Arizona Press. Fleming, T y Valiente-Banuet Eds. 25-41 p.
- Dávila, P.; Villaseñor, J.L.; Medina, R.; Ramírez, A.; Salinas, J.; Sánchez-Ken, Tenorio P. 1993. Listados florísticos de México. Flora el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Inst. Biol., UNAM. Méx.
- De Luca, V.; Laflamme, P. 2001. The expanding universe of alkaloid biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology* **4**:225–233
- Dominguez, X.; Dominguez X. J. 1976. Aspectos químicos de las cactáceas. *Cat. y Suc. Mex.* **XXI**: 39-47.
- Dominguez, X.; Rojas, P.; Gutiérrez, M.; Armenta, N.; Lara, G. 1969. Estudio preliminar de 31 cactáceas. *Rev. Soc. Quim. Mex.* **XIII**: 9-12.
- Duvall, M.R.; Biesboer, D.D. 1989. Comparisons of electrophoretic seed protein profiles among North American populations of *Zizania*. *Biochem. Sys. Ecol.* **17**:39-43.
- Eguiarte, L.; Souza, V.; Núñez-Farfán, J.; Hernández-Baños, B. El análisis filogenético: Métodos, problemas y perspectivas. *Bol. Soc. Bot. Mex.* **60**: 168-181.
- Facchini, P. 2001. Alkaloids biosynthesis in plants: Biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **52**:29–66
- Facchini, P.J.; Huber-Allanach.; Tari, L. Plant aromatic L-aminoacid descarboxylases: evolution, biochemistry and metabolic engineering applications. *Phytochemistry* **54**:121-138.

- Flores, C.M.; Peñalosa, I.; Hernández L.B.; Davila, P.D.; Arizmendi, M.C. 2003. Medium infrared chemometric analysis of floral nectar. *Phytochem. Anal.* **14**:319-324
- Flores, C.M.; Dávila, P.; Portilla, L.B. 2003 Alkaloids from *Neobuxbaumia* species (Cactaceae). *Biochem. Sys. Ecol.* **31**: 581-585.
- Fong, H.; Farnsworth, N. 1969. Alkaloids of *Acronychia bauberi* (*Bauerella australiana*) IV. Chromatographic separation of alkaloids. *Lloydia.* **32**: 110-112.
- Gibson, A.C. 1982. Phylogenetic relationships of Pachycereae. In: J.S.F. Baker and W.T. Starmer (Eds.).
- Gibson, A.C.; Horak, K.E. 1978. Systematic anatomy and Phylogeny of mexican columnar cacti. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **65**: 999-1097.
- Gibson, A.C; Nobel, P. 1986. The cactus primer. Harbard University Press. Cambridge, 286 pp.
- Gibson, A. C; Spencer, K; Bajaj, R; McLaughlin, J. 1986. The ever-changing landscape of cactus systematics. *Ann. Missouri. Bot. Gard.* **73**:532-555.
- Goloboff, P. 1999. NONA Ver 2. Published by the author. Tucumán, Argentina.
- Guzman, U.; Arias, S.; Dávila, P.D. 2002. Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autonoma de México. México, D.F. pp315.
- Harbone, J.B.; Turner, B.L. 1984. Plant chemosystematics. Academic Press. New York. pp 34-37.
- Heshkovitz, M.A.; Zimmer, E.A. 1997. On the evolutionary origins of the cacti. *Taxón* **46**: 217-233.
- Hunt, D.; Taylor, N. 1990. The genera of Cactaceae; progress towards consensus. *Bradleya.* **8**:85-107.
- Iwashina, T.; Ootani, S.; Hayashi, K. 1984. Neochilenin, a new glycoside of 3-O-metilquercetin, and other flavonoids in the tepals of *Neochilenia*, *Neoporteria* and *Parodia* species (Cactaceae). *Bot. Soc. of Jap.* **97**: 23-30.
- Kitching, I.J.; Humpries, D.; Williams, D.; Forey, P.L. 1998. Cladistics: The theory and practice of parsimony análisis. The systematics Association Special, No. 12.



- Kruger, T.; Cooks, R.; Mclaughlin, J.; Ranieri, R. 1977. Identification of alkaloids in crude extracts by mass-analyzed ion kinetic energy spectrometry. *J. Org. Chem.* **42**: 4162-4143.
- Laemli, U.K. 1970. *Nature*. 227: 680.
- Lau, A.B. 1994. *Neobuxbaumia sanchezmejoradae* Lau. 1994. *Cact. y Suc. Mex.* **XXXIX**: 3-7.
- Machado, M.F.; Prioli, A.J.; Mangolin, C.A. 1993. Malate dehidrogenase (MDH; ec1.1.1.37) isozymes in tissues and callus cultures of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Biochem. Genet.* **31**: 167-172.
- Maffei, M.; Meregalli, M.; Scannerini, S. 1997. Chemotaxonomic significance of surface wax n-alkanes in the Cactaceae. *Biochem. Sys and Ecol.* **25**: 241-253.
- Mangolin, C.A.; Prioli, A.J.; Machado, M.F. 1994(a). Alcohol dehydrogenase (ADH EC 1.1.1.1) isozymes as markers at 2,4-dichlorophenoxyacetic acid x kinetin combinations in callus cultures of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Biochem. Genet.* **32**: 191-200.
- Mangolin, C.A.; Prioli, A.J.; Machado, M.F. 1994(b). Isozyme patterns in callus cultures and in plants regenerated from calli of *Cereus peruvianus*. *Biochem. Genet.* **32**: 237-247.
- Mabry, T. 1977. The order centrospermeae. *Ann. Missouri. Gard.* **64**: 210-220.
- Mata, R.; McLaughlin, J. 1976. Cactus alkaloids. XLII: 3,4-dimetoxi- $\beta$ -fenetilamine and heliamine from the mexican cereoid *Backebergia militaris*. *Lloydia* **39**: 461-463.
- Mata, R.; McLaughlin, J. 1980. Cactus Alkaloids XLV. Tetrahydroisoquinolines from mexican Cereoid *Pachycereus pingle*. *Planta Medica.* **38**: 180-182.
- Mata, R.; MacLaughlin, J. 1980. Lemairin, a new glucoside from the mexican cactus, *Pachycereus weberi*. *J. Nat. Prod.* **43**: 411-413.
- Mata, R.; McLaughlin, L. 1982. Cactus alkaloids. 50. A comprehensive tabular sumary. *Rev. Lat. Quim.* **12**: 95-117.
- Mata, R.; Chang, C.; Mclaughlin, J. 1983.  $^{13}\text{C}$  Analysis of some simple tetrahydroisoquinolines, *Phytochem.* **22**: 1263-1270.

- Meyer, J.M.; Fogleman, J.C. 1987. Significance of saguaro cactus alkaloids in ecology of *Drosophila mettleri*, a soil-breeding, cactophilic drosophilid. *J. of Chem. Ecol.* **13**: 2069-2082
- Miller, J.M. 1988. Floral pigments and phylogeny in *Echinocereus* (Cactaceae). *Syst. Bot.* **13**: 173-183.
- Misset, M.T.; Fontenelle, C. 1992. Protein relationships between natural populations of *Ulex europaeus* and *U. galli* (Fabaceae, Genisteae) and their hybrids *Pl. Sys. Evol.* **179**:19-25.
- Murphy, R.W.; Sites, J.W.; Buth, D.G.; Haufler, C.H. 1990. Proteins I: isozyme electrophoresis in Molecular systematics. Hills, D.; Moritz, C. (ed.). Sinauer, Associates Inc. Sunderland, USA, pp45-125
- Nixon, K.C. 2002. Win Clada ver 1.00.08 Published by the author, Itaca, NY. USA.
- Ordaz, C.; Ferrigni, N.; Maclaghlin, J. 1983. Dehydroheliamine, a trace alkaloid from the saguaro *Carnegiea gigantea* (Cactaceae). *Phytochem.* **22**: 2101-2102.
- Padiglia, A.; Cruciani, E.; Pazzaglia, G.; Medda, R.; Floris, G. 1995. Purification and characterization of *Opuntia* peroxidase. *Phytochem.* **38**: 295-297.
- Pasha, M.K.; Sen, S.P. 1991. Seed protein patterns of Cucurbitaceae and their taxonomic implications. *Biochem. and Sys. Ecol.* **19**: 569-576.
- Paul, A.A. 1973. *Lloydia* **36**: 36-45.
- Piattelli, M. 1981. The betalains: Structure, biosynthesis and chemical taxonomy. Pp. 567-575 in *The biochemistry of plants: A comprehensive treatise*, Vol. 7: Secondary plant products, Ed. E.E. Conn. Academic Press, New York.
- Poe, S.; Wiens, J.J. 2000. Character selection and the methodology of morphological phylogenetics. En J.J. Wiens (ed.). *Phylogenetic analysis of morphological data*. Smithsonian Institution Press. pp. 20-36.
- Pummangura, S.; Mclaughlin, L.; Davis, D.; Cooks, R. 1982. Cactus XLIX. New trace alkaloids (dehydrosalsolidine and heliamine) from the saguaro, *Carnegiea gigantea*, and confirmation by MIKES. *J. Nat. Prod.* **45**: 277-282.
- Raffauf, R.F. 1996. *Plant alkaloids: A guide to their discovery and distribution*. Food Products Press and the Haworth Press. New York. 279 pp.

- Rahman, A. 1994. Isoquinoline alkaloids. En Handbook of natural products Vol. 3. 1-71 pp.
- Reyes, J. 1997. Cultivo y propagación como plantas de ornato. En Suculentas mexicanas Cactáceas. Ed. CONABIO. 69-78.
- Ruffner, G.A.; Clark, W.D. 1986. Extrafloral nectar of *Ferrocactus acanthodes* (Cactaceae): composition and importance to ants. *Amer. J. Bot.* **73**: 185-189
- Ruiz, A.M.; Enriquez, Q.M.; Oliva, G.R. 1982. Study of five sampling schemes applied to inventory of datilillo (*Yucca valida*) and cardon (*Pachycereus pringlei*). *Cienc. For.* **7**: 23-43.
- Salt, T.A.; Tocke, J.E; Alder, J.H. 1987. Dominance of delta-5-sterols in eight species of Cactaceae. *Phytochem.* **26**: 731-733.
- Santiago, M.A. 2003. Efecto del estrés lumínico sobre la actividad y expresión de isoenzimas de peroxidasas en *Neobuxbaumia tetetzo* en Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis de Licenciatura de Biología. FES Iztacala, UNAM. México.
- Santos, R. 2002. Composición de azúcares y contenido energético del néctar de nueve especies quiropterófilas del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Tesis de Licenciatura de Biología. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Serrano, C.E; Guzman, C.A. 1994. Phytochemical and chemotaxonomic studies on seeds of Cactaceae, subfamily Cereoideae grow in Argentina. *Biochem. Sys. Ecol.* **22**: 79-83.
- Sneath, P.H.; Sokal, R.R. 1973. Numerical Taxonomy. The principles and practice of numerical classification, Freeman, San Francisco, Ca. XV, 573 pp.
- Starha, R.; Urbankova, K.; Kuchina, J. 1997. Alkaloids from the genus *Gymnocalycium* (Cactaceae) II. *Biochem. Sys. and Ecol.* **25**: 363-364.
- Tanksley, S.D.; Orton T.J. Editores. 1983. Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Part A. Elsevier. Amsterdam 469-515.
- Terrazas, T.; Loza-Cornejo, S. 2002. Phylogenetic relationships of Pachycereae: a cladistic analysis based on anatomical and morphological data. En Columnar cacti and their mutualists. The University of Arizona Press. Fleming, T y Valiente-Banuet Eds. 25-41

- Torquato, E.F.; Prioli, A.J.; Machado, M.F. 1995. Differential alcohol dehydrogenase and malate dehydrogenase isozyme expression in longo callus tissues of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Biochem Genet.* **33**: 389-399.
- Thull, U.; Kneubühler, S.; Gaillard, P.; Carrupt, P.; Testa, B.; Altomare, C.; Carotti, A.; Jenner P.; McNaught P. 1995. Inhibition of monoamine oxidase by isoquinoline derivatives : Qualitative and 3D-quantitative structure-activity relationships, *Biochem. Pharm.* **50**: 869-877.
- Valiente-Banuet, A.; Arizmendi, M.C.; Rojas-Martínez, A.; Dominguez-Canseco, L. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, **12**: 103-119.
- Valiente-Banuet, A.; Arizmendi, M.C.; Rojas-Martínez, A.; Dávila, P. 1997a. Pollination Biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalaensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Am. J. of Botany*. **84**: 452-455.
- Valiente-Banuet, A.; Rojas-Martínez, A.; Casas, A.; Arizmendi, M.C.; Dávila, P. 1997b Floral biology and pollination ecology of two winter-blooming giant columnar cacti in Tehuacan Valley, México. *J. Arid Environ.* **37**: 331-341.
- Wallace, R.S. 1995. Molecular systematic study of the Cactaceae: using chloroplast DNA variation to elucidate cactus phylogeny. *Bradleya* **13**: 1-12.
- Unger, S.; Cooks, R.; Mata, R.; McLaughlin, L. 1980. Chemotaxonomy of columnar mexican cacti by mass spectrometry/mass spectrometry. *J. Nat. Prod.* **43**: 288-293.

## APÉNDICE I

COLECTAS DE ESPECIES DEL GENERO *Neobuxbaumia*

## Herbario XAL del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-XAL)

- "XAL", "M000691", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "nulo", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "ND", "-97", "26", "99.0", "18", "26", "99.0", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "M005770", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "nulo", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAP OTITLAN", "ND", "-999", "99", "99.0", "99", "99", "99.0", "21", "2", "1978", "M. Cházaro B.&V. Vázquez T.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "M005771", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "nulo", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAP OTITLAN", "ND", "-97", "26", "99.0", "18", "26", "99.0", "6", "5", "1979", "J.I. Calzada", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V083713", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "nulo", "MEXICO", "VERACRUZ", "S OLEDAD DE DOBLADO", "ND", "-96", "35", "99.0", "19", "13", "99.0", "10", "12", "1985", "M.E. Medina A.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V084535", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "nulo", "MEXICO", "VERACRUZ", "ACTOPAN", "ND", "-96", "26", "99.0", "19", "32", "99.0", "5", "7", "1985", "R. Acosta P.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V015118", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "EMILIANO ZAPATA", "Palo Gacho", "-96", "38", "9.0", "19", "23", "24.0", "25", "4", "1970", "H. Bravo H.&L. Scheinvar", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V065908", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ANGEL R. CABADA", "ND", "-95", "17", "99.0", "18", "35", "99.0", "14", "2", "1984", "L. Robles H.", "encantil", "Herborizado"
- "XAL", "V066503", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "EMILIANO ZAPATA", "ND", "-96", "19", "42.0", "18", "44", "42.0", "2", "9", "1972", "L. Scheinvar&J. Dorantes", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V031680", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "NAOLINCO", "ND", "-96", "48", "99.0", "19", "33", "99.0", "5", "5", "1978", "R. Ortega O.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V049681", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ACTOPAN", "ND", "-96", "39", "99.0", "19", "31", "99.0", "19", "8", "1976", "R. Ortega O.", "MAL PAIS", "Herborizado"
- "XAL", "V069255", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ACTOPAN", "El Descabezadero", "-96", "39", "99.0", "19", "31", "99.0", "19", "8", "1976", "R. Ortega O.", "Mal Pais", "Herborizado"
- "XAL", "V066505", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ALTO LUCERO DE GUTIERREZ

- BARRIOS", "ND", "-96", "37", "99.0", "19", "35", "99.0", "23", "11", "1970", "A. Lot H.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V057550", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ALTO LUCERO DE GUTIERREZ BARRIOS", "ND", "-96", "37", "99.0", "19", "35", "99.0", "23", "11", "1970", "A. Lot H.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V066509", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "EMILIANO ZAPATA", "ND", "-999", "99", "99.0", "99", "99", "99.0", "11", "4", "1968", "C. Delgadillo M.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V066508", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "EMILIANO ZAPATA", "ND", "-999", "99", "99.0", "99", "99", "99.0", "12", "4", "1965", "C. Delgadillo M.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V066510", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "EMILIANO ZAPATA", "ND", "-999", "99", "99.0", "99", "99", "99.0", "12", "4", "1965", "C. Delgadillo M.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V066512", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "XALAPA", "Alrededores de Xalapa", "-96", "55", "99.0", "19", "32", "99.0", "99", "99", "1957", "H. Bravo H.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V015114", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "XALAPA", "Xalapa", "-96", "55", "39.0", "19", "32", "24.0", "99", "99", "1957", "H. Bravo H.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V015113", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "XALAPA", "Xalapa", "-96", "55", "39.0", "19", "32", "24.0", "99", "99", "1955", "H. Bravo H.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V066504", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ANGEL R. CABADA", "ND", "-95", "17", "99.0", "18", "35", "99.0", "25", "4", "1980", "H. Bravo H.&L. Scheinvar", "sobre rocas basalticas", "Herborizado"
- "XAL", "V066511", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ANGEL R. CABADA", "Palo Gacho", "-95", "17", "99.0", "18", "35", "99.0", "26", "4", "1970", "H. Bravo H.&L. Scheinvar", "en terrenos calizos", "Herborizado"
- "XAL", "V065750", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ANGEL R. CABADA", "ND", "-95", "17", "99.0", "18", "35", "99.0", "26", "6", "1983", "L. Robles H.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V066507", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "EMILIANO ZAPATA", "ND", "-96", "19", "42.0", "18", "44", "42.0", "2", "9", "1972", "L. Scheinvar&J. Dorantes", "en ladera", "Herborizado"

- "XAL", "V066506", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia",  
 ", "MEXICO", "VERACRUZ", "ACTOPAN", "ND", "-  
 96", "44", "36.0", "19", "32", "18.0", "2", "9", "1972", "L. Scheinvar&J.  
 Dorantes", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V049678", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia",  
 ", "MEXICO", "VERACRUZ", "ANGEL R. CABADA", "ND", "-  
 95", "17", "99.0", "18", "35", "99.0", "28", "12", "1976", "R. Ortega  
 O.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V069257", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia",  
 ", "MEXICO", "VERACRUZ", "ACTOPAN", "ND", "-  
 96", "39", "99.0", "19", "31", "99.0", "28", "12", "1976", "R. Ortega  
 O.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V049682", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia",  
 ", "MEXICO", "VERACRUZ", "ACTOPAN", "El Descabezadero", "-  
 999", "99", "99.0", "99", "99", "99.0", "19", "8", "1976", "R. Ortega O.", "MAL  
 PAIS", "Herborizado"
- "XAL", "V069256", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia",  
 ", "MEXICO", "VERACRUZ", "ACTOPAN", "El Descabezadero", "-  
 96", "39", "99.0", "19", "31", "99.0", "19", "8", "1976", "R. Ortega O.", "Mal  
 Pais", "Herborizado"
- "XAL", "V049680", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia",  
 ", "MEXICO", "VERACRUZ", "ANGEL R. CABADA", "ND", "-  
 95", "17", "99.0", "18", "35", "99.0", "28", "12", "1976", "R. Ortega  
 O.", "ND", "Herborizado"
- "XAL", "V069258", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia",  
 ", "MEXICO", "VERACRUZ", "ACTOPAN", "ND", "-  
 96", "39", "99.0", "19", "31", "99.0", "28", "12", "1976", "R. Ortega  
 O.", "ND", "Herborizado"

#### Herbario IEB del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-BAJÍO).

- "IEB", "16693", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "GUANAJUAT  
 O", "ATARJEA", "ATARJEA", "-99", "43", "7.0", "21", "16", "0.0", "22", "11", "1995", "R.T.  
 Bárcenas, C. Gómez H.", "MATORRAL DE LEGUMINOSAS", "Herborizado"
- "IEB", "19462", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "QUERETARO",  
 ", "JALPAN DE SERRA", "TANCOYOL", "-  
 99", "19", "45.0", "21", "23", "54.0", "12", "12", "1986", "E. Sánchez, G.  
 Galindo", "ND", "Herborizado"
- "IEB", "19463", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "QUERETARO",  
 ", "CADEREYTA DE MONTES", "MORA LA", "-  
 99", "26", "38.0", "20", "52", "23.0", "10", "6", "1993", "S. Zamudio R.", "LADERA  
 CALIZA CON MATORRAL SUBMONTANO Y BOSQUE TROPICAL  
 CADUCIFOLIO", "Herborizado"
- "IEB", "19464", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ",  
 ACTOPAN", "MOZOMBOA", "-96", "28", "31.0", "19", "30", "14.0", "5", "7", "1987", "R.

Acosta P.,"SOBRE LADERA DE SOTAVENTO, SUELO DE ROCA VOLCANICA","Herborizado"  
 "IEB","19465","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","PUEBLA","ZAPO TITLAN","ZAPOTITLAN SALINAS",-  
 97","28","29.0","18","19","41.0","6","5","1979","J.I. Calzada M.,"MATORRAL CRASICAULE ESPINOSO, SUELO CALIZO, ABUNDANTE PIEDRA DE ONIX","Herborizado"  
 "IEB","139542","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","PUEBLA","IZUCAR DE MATAMOROS","SANTIAGO UNDAMEO","nulo","nulo","nulo","nulo","nulo","nulo","19","6","1998","E. Guízar N., G. Herrera M.,"A LA ASOCIACION LOCALMENTE SE LE CONOCE COMO LA \"GIGANTERA\", POR LA DOMINANCIA DE NEOBUXBAUMIA MEZCALAENSIS","ND"

### **Colección de Cactáceas Columnares de México (IE-MORELIA, UNAM).**

"MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","euphorbioides","MEXICO","TAMA ULIPAS","GOMEZ FARIAS","Ca. 2 km al E de Gómez Farías, ladera W de Sierra Chiquita."",-99","7","99","23","1","99","13","5","1982","A. Valiente et L. Viveros","Selva baja caducifolia.,"HERBARIO"  
 "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","euphorbioides","MEXICO","VERA CRUZ","ND","Barranca, junto a Palo Gacho."",-  
 96","38","99","19","23","99","25","4","1970","H. Sánchez-Mejorada R.et al.,"ND","HERBARIO"  
 "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","euphorbioides","MEXICO","VERA CRUZ","ND","Palo Gacho, cerca de Jalapa."",-  
 96","38","9","19","23","24","2","9","1972","L. Scheinvar et J. Dorantes","ND","HERBARIO"  
 "IBUG","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","euphorbioides","MEXICO","VERACRUZ","ACTOPAN","Cerca del Trapiche del Rosario."",-  
 96","44","99","19","32","99","99","9999","M. Cházaro","Selva baja caducifolia.,"HERBARIO"  
 "XAL","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","euphorbioides","MEXICO","VERACRUZ","NAOLINCO","Chiverias."",-96","48","99","19","33","99","5","5","1978","R. Ortega","Selva baja caducifolia, primaria.,"HERBARIO"  
 "XAL","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","euphorbioides","MEXICO","VERACRUZ","ACTOPAN","El Descabezadero (3 km antes de Chicuasen).",-  
 96","36","99","19","31","99","19","8","1976","R. Ortega","Selva baja caducifolia, primaria.,"HERBARIO"  
 "MEXU","59774","Cactaceae","Neobuxbaumia","macrocephala","MEXICO","PUEBLA","TEHUACAN","Cerro de Tochapa, cerca de Tehuacán."",-  
 97","23","24","18","27","36","99","3","1954","H. Bravo H.,"ND","HERBARIO"  
 "MEXU","70507","Cactaceae","Neobuxbaumia","macrocephala","MEXICO","PUEBLA","TEHUACAN","Tehuacán."",-  
 97","23","99","18","27","99","27","11","1960","H. Bravo H.,"ND","HERBARIO"



- "MEXU", "497388", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Entre Zapotitlán de las Salinas y Acatepec.", "-97", "31", "99", "18", "16", "99", "21", "3", "1957", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "59809", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Entre Zapotitlán de las Salinas y Acatepec.", "-97", "31", "99", "18", "16", "99", "27", "11", "1960", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "133824", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "15 km al SE de Zapotitlán de las Salinas.", "-97", "29", "26", "18", "13", "51", "12", "4", "1970", "H. Bravo H., L. Scheinvar et H. Sánchez-Mejorada", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Cañón de Atoyac.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "1", "3", "1957", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "IZUCAR DE MATAMOROS", "Cerca de Izúcar de Matamoros.", "-98", "29", "99", "18", "36", "99", "19", "3", "1967", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "GUERRE RO", "ND", "2 km antes del Río Mezcala, sobre la carretera México-Acapulco.", "-99", "35", "99", "17", "57", "99", "12", "5", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "12 km al W de Zapotitlán de las Salinas.", "-97", "32", "99", "18", "15", "99", "12", "4", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "IZUCAR DE MATAMOROS", "Izúcar de Matamoros.", "-98", "29", "99", "18", "36", "99", "1", "1", "1943", "F. Miranda González", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "MORELO S", "TLAQUILTENANGO", "Las Estacas.", "-99", "6", "18", "18", "43", "38", "1", "6", "1955", "H. Bravo H.", "Matorral espinoso.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "MORELO S", "ND", "Carretera Zacatepec-Cuatla, entrada a Rancho Seco.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "27", "4", "1968", "J. Vázquez", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "GUERRE RO", "ND", "A 7 km del camino a Chichihualco, contados a partir de la desviación de la carretera México-Acapulco.", "-99", "33", "58", "17", "37", "0", "20", "5", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "Costa Palmas.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "1", "10", "1942", "F. Miranda González", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "Km 195 de la carretera de Izúcar de Matamoros hacia Acatlán.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "1", "1", "1978", "P. Cheuva", "ND", "HERBARIO"

- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "Horizontes, ca. 40 km al NW de Huajuapán de León, carretera Izúcar de Matamoros-Oaxaca.", "-98", "8", "20", "18", "13", "47", "7", "4", "1972", "H. Sánchez-Mejorada R.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "COLIMA", "ND", "Sobre la carretera Manzanillo-Colima.", "-104", "30", "99", "19", "10", "99", "4", "5", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "XAL", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Cañón del Zopilote, km 236, Casa Verde, 4 km al W en carretera a Xochipala.", "-99", "35", "99", "17", "47", "99", "27", "6", "1971", "H. Kruse", "Selva decidua tropical.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "4 km NW of Petlalcingo along Pan-American highway at km 304.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "24", "8", "1960", "H. Iltis et al.", "With Fouquieria ochoteranae, Acacia spp., a few small Mammillaria.", "HERBARIO"
- "ENCB", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Aproximadamente 5 km al SE de Zapotitlán de Las Salinas.", "-97", "26", "99", "18", "17", "99", "19", "7", "1989", "H. Cota et O. Dorado", "Matorral xerófilo con Pachycereus, Stenocereus stellatus y Opuntia.", "HERBARIO"
- "ENCB", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Tepeguaje, al S en la falda N del Cerro Tepeguaje.", "-100", "58", "99", "18", "42", "99", "8", "6", "1971", "H. Kruse", "Asociación con Bursera, Bombax, Comocladia y Cedrella.", "HERBARIO"
- "ENCB", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Tepeguaje, al S en el Cerro Alto Tepeguaje.", "-100", "58", "99", "18", "42", "99", "28", "7", "1969", "H. Kruse", "Asociación con Bursera citronella, Comocladia sp.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Aproximadamente 5 km al SE de Zapotitlán de Las Salinas.", "-97", "26", "99", "18", "17", "99", "19", "7", "1989", "H. Cota et O. Dorado", "Matorral xerófilo con Pachycereus hollianus, Stenocereus stellatus.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "multiareolata", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Cerca de Agua de Obispo, Serranía de Acahuizotla.", "-99", "31", "99", "17", "16", "99", "20", "4", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "multiareolata", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Tierra Colorada, cerca de la Presa de La Venta, Río Omitlán.", "-99", "35", "99", "17", "10", "99", "1", "7", "1972", "H. Sánchez-Mejorada R.", "ND", "HERBARIO"
- "XAL", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "multiareolata", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Rincón de La Vía.", "-99", "29", "99", "17", "17", "99", "28", "6", "1971", "H. Kruse", "Selva mediana subcaducifolia, Ficus, Ceiba, Bursera, Acalia.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "HIDALGO", "ND", "Barranca de Tolimán.", "-99", "55", "19", "20", "54", "24", "1", "1", "1954", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"

- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "HIDALGO", "T LAHUILTEPA", "Barranca de Tolantongo.", "-  
98", "58", "99", "20", "38", "99", "1", "2", "1961", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "HIDALGO", "M ETZTITLAN", "2 km al W de San Cristobal, Meztlán.", "-  
98", "50", "99", "20", "38", "99", "16", "4", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "QUERETARO", "JALPAN DE SERRA", "10 km al S de Jalpan.", "-  
99", "28", "99", "21", "7", "99", "4", "7", "1992", "L. Scheinvar et al.", "Bosque caducifolio.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "QUERETARO", "JALPAN DE SERRA", "Colonia San Martín.", "-  
98", "39", "40", "21", "21", "37", "10", "3", "1991", "L. Scheinvar et A. Gutiérrez", "Bosque caducifolio.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "QUERETARO", "LANDA DE MATAMOROS", "Cerro Hoyo Blanco, La Lagunita.", "-  
99", "18", "99", "21", "15", "99", "21", "6", "1986", "L. Scheinvar et S. Magallón", "Bosque tropical subcaducifolio.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "polylopha", "MEXICO", "QUERETARO", "LANDA DE MATAMOROS", "Landa de Matamoros.", "-  
99", "19", "99", "21", "10", "99", "23", "3", "1985", "L. Scheinvar et al.", "Bosque caducifolio.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Cerros cercanos a Chicuasén, a 11 km de Actopan.", "-  
96", "40", "99", "19", "31", "99", "23", "11", "1970", "A. Lot Helgueras", "Selva baja caducifolia.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Jalapa.", "-96", "55", "99", "19", "32", "99", "1", "1", "1955", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Entre Jalapa y Plan del Río.", "-  
96", "45", "99", "19", "27", "99", "12", "4", "1965", "C. Delgadillo", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Sobre el camino Jalapa-Veracruz, entre La Joya y Palo Gacho.", "-  
96", "31", "99", "19", "20", "99", "25", "4", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Jalapa, 5 km al S de Rinconada.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "8", "3", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Entre La Joya y Palo Gacho, a la orilla de la carretera Jalapa-Veracruz.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "26", "4", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et al.", "ND", "HERBARIO"

- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","VERACRUZ","ND","Cerca de Jalapa."",-96,"55","99","19","32","99","1","1","1957","H. Bravo H.","ND","HERBARIO"
- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","VERACRUZ","ND","Trapiche del Rosario, Cañada de San Diego."",-96,"44","99","19","32","99","2","9","1972","L. Scheinvar et al.","Selva baja caducifolia.","HERBARIO"
- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","VERACRUZ","ND","Palo Gacho, cerca de Jalapa."",-96,"38","99","19","23","99","2","9","1972","L. Scheinvar et J. Dorantes","ND","HERBARIO"
- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","OAXACA","ND","Tehuantepec, La Mata."",-95,"14","18","16","19","27","1","4","1964","H. Bravo H.","ND","HERBARIO"
- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","OAXACA","JU CHITAN DE ZARAGOZA","Juchitán, Lomas de la Ventosa."",-999,"99","99","99","99","99","9","4","1972","H. Sánchez-Mejorada R.","ND","HERBARIO"
- "IBUG","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","VERACRUZ","A CTOPAN","Cerca del Trapiche del Rosario."",-96,"44","99","19","32","99","99","99","9999","M. Cházaro","Selva baja caducifolia.","HERBARIO"
- "XAL","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","VERACRUZ","AC TOPAN","El Descabezadero (3 km antes de Chicuasen).",-96,"36","99","19","31","99","99","99","9999","R. Ortega","Selva baja caducifolia, primaria.","HERBARIO"
- "XAL","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","VERACRUZ","ND","Camino Coetcalan-Cueva del Abono."",-96,"42","99","19","18","99","26","6","1983","L. Robles","Selva baja caducifolia, primaria.","HERBARIO"
- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","squamulosa","MEXICO","MICHOACAN","ND","28.2 km al SW de Coalcomán rumbo Coahuayana."",-103,"23","20","18","48","55","19","10","1987","H. Sánchez-Mejorada R. et al.","Bosque caducifolio.","HERBARIO"
- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","PUEBLA","TEHUACAN","Zapotitlán de las Salinas."",-97,"28","99","18","19","99","1","2","1960","H. Bravo H.","ND","HERBARIO"
- "MEXU","505144","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","PUEBLA","TEHUACAN","Zapotitlán de las Salinas."",-97,"28","99","18","19","99","20","6","1954","H. Bravo H.","ND","HERBARIO"
- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","PUEBLA","ND","San Sebastián Zinacantepec, al S de Tehuacán."",-97,"14","34","18","20","4","28","11","1960","H. Bravo H.","ND","HERBARIO"
- "MEXU","2083000","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","PUEBLA","COXCATLAN","Coxcatlán."",-97,"9","99","18","15","99","30","4","1972","L. Wolfgang Boege","ND","HERBARIO"

- "MEXU", "70311", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "OAXACA", "ND", "Al NW de Cuicatlán.", "-96", "57", "99", "17", "47", "99", "17", "9", "1948", "F. Miranda González", "ND", "HERBARIO"
- "XAL", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAPOTITLAN DE MENDEZ", "Por Santa Ana Tetlaxco (camino a San Juan Raya).", "-97", "28", "99", "18", "19", "99", "21", "2", "1978", "M. Cházaro et V. Vazquez", "Asociación de cactáceas.", "HERBARIO"
- "XAL", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAPOTITLAN DE MENDEZ", "Barranca Tilapa, por el camino a Los Reyes Mezontla.", "-97", "26", "99", "18", "26", "99", "21", "2", "1978", "J. I. Calzada", "Matorral crasicaule.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides spp. tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Entre Zapotitlán de las Salinas y Texcala.", "-97", "26", "99", "18", "21", "99", "12", "4", "1970", "H. Sánchez-Mejorada R. et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides var. nuda", "MEXICO", "OAXACA", "ND", "La Mata, al NW de Tehuantepec.", "-95", "14", "6", "16", "19", "36", "25", "1", "1956", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides var. nuda", "MEXICO", "OAXACA", "ND", "Tehuantepec, km 775 carretera Cristobal Colón, Cerro de Guiengola.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "25", "1", "1956", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides var. nuda", "MEXICO", "OAXACA", "ND", "Tehuantepec, Cerro Guiengola.", "-95", "20", "99", "16", "23", "99", "11", "5", "1972", "T. MacDougall", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "518150", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAPOTITLAN", "2 km antes de San Juan Raya.", "-97", "38", "12", "18", "19", "19", "10", "8", "1990", "S. Gama López, L. U. Guzmán et S. Arias M.", "Matorral crasicaule.", "HERBARIO"
- "MEXU", "518122", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAPOTITLAN", "5 km al N de Acatepec.", "-97", "33", "7", "18", "15", "0", "27", "10", "1990", "L. U. Guzmán, R. M. Irigoyen, S. Arias et S. Gama", "Matorral crasicaule.", "HERBARIO"
- "MEXU", "59809", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "Entre Tehuacán y Huajuapán de León.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "21", "3", "1957", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "70506", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Tehuacán.", "-97", "23", "99", "18", "27", "99", "27", "10", "1960", "H. Bravo H.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAPOTITLAN", "12 km al N de Santiago Acatepec.", "-97", "34", "49", "18", "20", "8", "28", "3", "1992", "L. U. Guzmán, S. Gama et S. Arias M.", "Matorral xerófilo con crasicaules.", "Flor preservada en líquido."
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "1 km al W de San Juan Raya.", "-97", "38", "4", "18", "19", "3", "2", "5", "1991", "A. Valiente, E. Vega, S. Arizaga, A.

- Altesor et N.", "Matorral crasicaule con Neobuxbaumia mezcalensis, N. macrocephala, Bea.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAPOTITLAN", "Cerro Viejo, al SE de San Fco. Xochiltepec, ca. 15 km de la carretera Tehuacán-Huajuapán, desviación a San Luis Tultitlanapa.", "-97", "26", "44", "18", "14", "43", "7", "6", "1991", "A. Valiente, C. Montaña, N. Schulte, H Godínez.", "Chaparral.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "SAN ANTONIO CAÑADA", "6.7 km al SSW de Sta. Catalina Oxolotepec, camino de Sta. Catalina a San Antonio Cañada.", "-97", "17", "32", "18", "31", "21", "1", "3", "1993", "S. Arias M. et L. U. Guzmán", "Bosque espinoso.", "HERBARIO"
- "MEXU", "538235", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "OXCATLAN", "1 km al W de Calipan.", "-97", "11", "37", "18", "17", "12", "1", "6", "1991", "S. Arias, L.U. Guzmán et S. Gama López", "Matorral xerófilo con tetechera.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "OAXACA", "SAN JUAN BAUTISTA ATATLAHUCA", "San Juan Bautista Atatlauca.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "6", "9", "1992", "M. A. Vásquez Dávila et C. Martínez", "Matorral xerófilo espinoso.", "HERBARIO"
- "MEXU", "518184", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAPOTITLAN", "10 km sobre la desviación a Atolotitlán.", "-97", "29", "35", "18", "14", "36", "9", "7", "1990", "S. Arias, L.U. Guzmán et S. Gama López", "Tetechera.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "ZAPOTITLAN", "8.5 km del entronque a San Luis Atolotitlán.", "-97", "29", "35", "18", "15", "0", "19", "7", "1993", "L. U. Guzmán et S. Arias M.", "Matorral xerófilo con leguminosas.", "HERBARIO"
- "MEXU", "538153", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "OXCATLAN", "Desviación a Axusco, cerca de la carretera Tehuacán-Teotitlán.", "-97", "11", "37", "18", "14", "28", "30", "5", "1991", "L. U. Guzmán, S. Gama et S. Arias M.", "Bosque tropical caducifolio perturbado.", "Flores preservadas en líquido."
- "MEXU", "133826", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "squamulosa", "MEXICO", "COLIMA", "MANZANILLO", "Manzanillo.", "-104", "17", "34", "19", "4", "43", "4", "5", "1970", "H. Bravo H. et H. Sánchez-Mejorada R.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "583811", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "squamulosa", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Colonia Limón, Ixtapa Zihuatanejo.", "-101", "32", "41", "17", "38", "38", "24", "4", "1976", "L. Scheinvar et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "583810", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "squamulosa", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Colonia Limón, Ixtapa Zihuatanejo.", "-101", "32", "41", "17", "38", "38", "24", "4", "1976", "L. Scheinvar et al.", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "400637", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "squamulosa", "MEXICO", "GUERRERO", "ND", "Cerro Banco de Rocas, cerca de Ixtapa.", "-101", "38", "16", "17", "40", "16", "24", "4", "1976", "L. Scheinvar", "ND", "HERBARIO"

- "MEXU", "DO15115", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Entre Jalapa y Plan del Río.", "-  
96", "45", "99", "19", "27", "99", "11", "4", "1968", "C. Delgadillo", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "118887", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Entre Jalapa y Plan del Río.", "-  
96", "45", "99", "19", "27", "99", "12", "4", "1965", "C. Delgadillo", "ND", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "TLACOTEPEC DE BENITO JUAREZ", "Al E de San Lucas el Viejo, sobre la brecha de Tlacotepec a Xochitlán.", "-  
97", "43", "10", "18", "34", "27", "2", "3", "1993", "L. U. Guzmán et S. Arias M.", "Matorral xerófilo con crasicuales, Opuntia, Myrtillocactus, Echinocactus.", "Flores preservadas en líquido."
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "ATEXCAL", "4 km al S de Santiago Nopala.", "-  
97", "38", "42", "18", "25", "0", "3", "3", "1993", "S. Arias M. et L. U. Guzmán", "Matorral xerófilo con rosetófilos, Agave spp.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "1 km al W de San Juan Raya.", "-  
97", "38", "4", "18", "19", "3", "2", "5", "1991", "A. Valiente, E. Vega, S. Arizaga, A. Altesor et N.", "Matorral crasicaule con Neobuxbaumia mezcalensis, N. macrocephala, Bea.", "HERBARIO"
- "MEXU", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "OAXACA", "SANTIAGO CHAZUMBA", "4 km al S de la desviación a Frontera, km 61 de la carretera Tehuacán-Huajuapán de León.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "5", "4", "1993", "L. U. Guzmán, S. Arias M. et A. Salinas.", "Matorral xerófilo.", "Flores preservadas en líquido."
- "MEXU", "356976", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "OAXACA", "ND", "Al E de Totolapan.", "-999", "99", "99", "99", "99", "99", "16", "6", "1970", "H. Bravo H.", "Selva baja caducifolia.", "HERBARIO"
- "US", "453434", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Near Tehuacán.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "30", "8", "1905", "J. N. Rose, J. H. Painter et J. S. Rose", "ND", "HERBARIO"
- "US", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "4-10 mi SW of Tehuacan along road to Zapotitlán.", "-  
97", "25", "36", "18", "24", "42", "99", "8", "1963", "Gentry, Barclay et Arguelles", "Arid thorn forest", "HERBARIO"
- "US", "2398019", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "Between Calipa and Acatepec. Zapotitlán Valley area along road from Chazumba, Oaxaca to Acatepec.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "20", "7", "1961", "C. E. Smith, Jr.; A. Peterson et N. Tejeda", "Primarily thorn-scrub-cactus cover with evidence of former oak forest.", "HERBARIO"
- "US", "2976774", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUACAN", "Tehuacán.", "-97", "23", "99", "18", "27", "99", "99", "99", "1919", "B. P. Reko", "ND", "HERBARIO"

- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "TAMAULIPAS", "ND", "SE de Tamaulipas.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "Selva mediana subcaducifolia", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "San Nicolás.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "CO SOLEACAQUE", "Cerro Gordo; extremo NW de Pachuca.", "-  
98", "43", "99", "20", "8", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Actopan.", "-  
96", "18", "24", "19", "30", "12", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "San Nicolás.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Trapiche del Rosario.", "-  
96", "44", "36", "19", "32", "12", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "CO SOLEACAQUE", "Cerro Gordo; extremo NW de Pachuca.", "-  
98", "43", "99", "20", "8", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Palo Gacho, cerca de Jalapa.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "TAMAULIPAS", "ND", "SE de Tamaulipas.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "Tropical.", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "Near San Sebastian de la Frontera, SW de Tehuacán.", "-  
97", "39", "0", "18", "14", "0", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "OAXACA", "ND", "10 mi N of Tehuantepec.", "-  
95", "8", "42", "16", "42", "12", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "Near Zapotitlan.", "-  
97", "20", "30", "18", "19", "42", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "GUERRERO", "CHILPANCINGO DE LOS BRAVO", "Río Mezcala.", "-  
99", "36", "5", "17", "56", "2", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "6-7 mi W of Zapotitlan.", "-  
97", "33", "30", "18", "19", "6", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"
- "ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "6-7 mi W of Zapotitlan.", "-  
97", "33", "30", "18", "19", "6", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"



- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","macrocephala","MEXICO","PUEBLA","N D","Huajuapán de León-Zapotitlán road." ,"-  
97","41","0","18","6","6","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","macrocephala","MEXICO","PUEBLA","N D","9 mi W of Zapotitlán." ,"-  
97","34","30","18","20","24","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","OAXACA","N D","70 km al SW de Miahuatlán y 50 km al SE del poblado de Juchatengo." ,"-  
97","2","30","16","8","24","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","OAXACA","ND","Río Totolapan area." ,"-  
96","18","24","16","39","48","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","OAXACA","ND","Near Tehuantepec." ,"-  
95","14","6","16","19","36","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","PUEBLA","TEHUACAN","Zapotitlán de las Salinas." ,"-  
97","28","99","18","19","99","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","PUEBLA","N D","Rio Atoyac area." ,"-  
98","20","30","19","12","48","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","PUEBLA","N D","Several mi S of Chazumba." ,"-  
97","40","54","18","9","6","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","PUEBLA","N D","Barranca Grande." ,"-  
999","99","99","99","99","99","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","macrocephala","MEXICO","PUEBLA","N D","Barranca Grande." ,"-  
999","99","99","99","99","99","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","OAXACA","ND","Totolapan." ,"-96","18","99","16","40","99","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","PUEBLA","N D","San Sebastián de la Frontera." ,"-  
97","39","24","18","15","0","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","macrocephala","MEXICO","PUEBLA","N D","8 mi W of Zapotitlán." ,"-  
97","34","0","18","19","42","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"
- "MEXU","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","sanchezmejoradae","MEXICO","OAXACA","ND","Santiago Nuyoo." ,"-999","99","99","99","99","99","99","5","1976","A. B. Lau","Bosque abierto muy perturbado." ,"-HERBARIO"
- "US","3052535","Cactaceae","Neobuxbaumia","macrocephala","MEXICO","OAXACA","ND","Tehuantepec." ,"-95","14","99","16","19","99","23","1","1913","C. Conzatti","ND","HERBARIO"
- "ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","scoparia","MEXICO","VERACRUZ","ND","Between Puente Nacional and Cerro Gordo." ,"-  
96","36","30","19","23","18","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "OAXACA", "JUCHITAN DE ZARAGOZA", "Juchitán.", "-  
95", "1", "99", "16", "26", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "E of Jalapa.", "-  
96", "53", "8", "19", "32", "36", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "CUAUTEMPAN", "Huajuapán de León.", "-  
97", "46", "99", "17", "48", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "9 mi W of Zapotitlán.", "-  
97", "34", "30", "18", "20", "24", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Palo Gacho, cerca de Jalapa.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Río Actopan.", "-  
96", "36", "36", "19", "29", "54", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "San Nicolás.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Trapiche del Rosario.", "-  
96", "44", "36", "19", "32", "12", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Cerro Gordo.", "-  
96", "42", "0", "19", "25", "54", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Entre Jalapa y Puente Nacional.", "-  
96", "40", "36", "19", "23", "24", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "San Nicolás.", "-  
999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND", "Cerro Gordo.", "-  
96", "42", "0", "19", "25", "54", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "TAMAULIPAS", "ND", "Valle de Jaumave.", "-  
99", "21", "6", "23", "24", "24", "99", "99", "9999", "ND", "Matorral alto subinermé.", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "MORELOS", "ND", "Carretera Zacatepec-Cuautla.", "-  
99", "3", "18", "18", "42", "24", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "MORELOS", "ND", "Grutas de Cacahuamilpa.", "-  
99", "30", "24", "18", "40", "18", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND",  
 "San Nicolás.", "-  
 999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND",  
 "Actopan.", "-  
 96", "18", "24", "19", "30", "12", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "scoparia", "MEXICO", "VERACRUZ", "ND",  
 "Cerro Gordo.", "-  
 96", "42", "0", "19", "25", "54", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ",  
 "ND", "San Nicolás.", "-  
 999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ",  
 "ND", "Trapiche del Rosario.", "-  
 96", "44", "36", "19", "32", "12", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ",  
 "ND", "Cerro Gordo.", "-  
 96", "42", "0", "19", "25", "54", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "euphorbioides", "MEXICO", "VERACRUZ",  
 "ND", "Palo Gacho, cerca de Jalapa.", "-  
 999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "ND", "Cer  
 ca de Calipan.", "-  
 97", "9", "42", "18", "17", "12", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "TEHUAC  
 AN", "Cerro Colorado.", "-  
 97", "11", "6", "18", "22", "0", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "OAXACA", "ND", "Ent  
 re Teotitlán del Camino y Tecomavaca.", "-  
 97", "3", "42", "18", "1", "36", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "macrocephala", "MEXICO", "PUEBLA", "N  
 D", "Entre Tehuacán y Huajuapán de León.", "-  
 999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "N  
 D", "Pocos km al SW de Zapotitlán de las Salinas.", "-  
 97", "30", "0", "18", "18", "36", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "tetetzo", "MEXICO", "PUEBLA", "TEPEXI  
 DE RODRIGUEZ", "ND", "-  
 999", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "PUEBLA", "N  
 D", "Rio Atoyac area.", "-  
 98", "20", "30", "19", "12", "48", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND", "ND", "Cactaceae", "Neobuxbaumia", "mezcalaensis", "MEXICO", "GUERRERO",  
 "CHILPANCINGO DE LOS BRAVO", "Rio Mezcala.", "-  
 99", "36", "5", "17", "56", "2", "99", "99", "9999", "ND", "ND", "HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","GUERRERO",  
 ,"ND","Acahuitzotle.", "-  
 99","28","0","17","21","42","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","OAXACA","ND","Tot  
 olapan.", "-96","18","99","16","40","99","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","euphorbioides","MEXICO","TAMAULIPA  
 S","ND","Cuesta del Abra.", "-  
 999","99","99","99","99","99","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","tetetzo","MEXICO","OAXACA","ND","Río  
 Tehuantepec.", "-  
 95","13","36","16","19","0","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","GUERRERO",  
 ,"ND","Mexico-Acapulco road.", "-  
 999","99","99","99","99","99","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","MORELOS", "  
 TLAQUILTENANGO","Las Estacas.", "-  
 99","6","18","18","43","38","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","MORELOS", "  
 TLALTIZAPAN","Carretera Zacatepec-Cuautla entrada a la cañada Rancho  
 Seco.", "-99","6","24","18","43","6","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","MORELOS", "  
 ND","Grutas de Cacahuamilpa.", "-  
 99","30","24","18","40","18","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","MORELOS", "  
 ND","5 km adelante de El Higuero rumbo al balneario Las Huertas.", "-  
 99","9","48","18","31","54","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","MORELOS", "  
 ND","1 km adelante de San Rafael.", "-  
 99","0","6","18","38","48","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

"ND","ND","Cactaceae","Neobuxbaumia","mezcalaensis","MEXICO","MORELOS", "  
 ND","Tlaltizapan 1.5 km camino nuevo Temilpa-Las Estacas.", "-  
 99","7","12","18","41","6","99","99","9999","ND","ND","HERBARIO"

## Apéndice II

### Descripción morfológica del género *Neobuxbaumia*

La descripción morfológica del género *Neobuxbaumia*, incluye caracteres del tronco, aréolas, espinas y flores. Bravo-Hollis, H. (1978), resume la descripción para cada uno de los caracteres mencionados en las 7 especies de *Neobuxbaumia* que reconoce en su propuesta. Adicionalmente, se consideraron otras fuentes de información bibliográfica que contenían información de tipo morfológica para las especies del género *Neobuxbaumia* (Bravo, *et al*, 1970; Bravo, *et al* 1971a; 1971b; Bravo, *et al* 1973; Lau, 1994).

En general, en el género se incluyen especies de porte grande, cuyos tallos pueden ser columnares simples (sin ramificación), con ramas escasas o bien, ser muy ramificadas. Los tallos presentan costillas poco prominentes y podarios provistos de depresiones interareolares más o menos marcadas. Las aréolas son lanuginosas, circulares, obovadas o elípticas. Las espinas son robustas o flexibles. Las flores son cilíndrico-campanuladas y nacen en el ápice o a lo largo del tallo, tienen hábitos nocturnos o matutinos. En ellas, la cámara nectarial generalmente es amplia y se encuentra más o menos cerrada por los estambres primarios. Los frutos presentan una dehiscencia irregular, aunque generalmente abren como estrella. La pulpa de los frutos es blanca (no jugosa). Las semillas son oscuras, brillantes y de forma oblicuo-reniformes.

#### Características del tronco

El tronco ha servido de caracter distintivo entre las especies de *Neobuxbaumia*, ya que, se asocia con la altura que pueden alcanzar los organismos y el patrón de ramificación que presentan. En *N. Scoparia*, el tallo alcanza una altura de 6-12 m, y tiene un diámetro de 30 cm. Por su parte, el tallo de *N. tetezo*, presenta una altura de 1.5 a 15 m y presenta un diámetro (tallo principal) de 9 a 60 cm. En cuanto a *N. macrocephala*, el tallo es leñoso y sólido, y presenta un patrón

variable de ramificación. Éste tiene una altura entre 7-15 m y un diámetro (tallo principal) entre 30 y 60 cm. En *N. polylopha*, se observa un tronco principal sin ramificaciones o con algunas pocas, que son producidas por traumatismos. Este tallo llega a medir entre 7-15 m de alto y tiene un diámetro de 25 a 45 cm. En ésta especie, son notorias las constricciones anuales que se presentan. Al igual que *N. polylopha*, *N. multiareolata*, tiene un tronco simple, a veces con algunas ramificaciones que se originan por traumatismos. Éste alcanza 10 m de altura y tiene 24 cm de diámetro. Por su parte, *N. mezcalaensis*, presenta un tronco columnar de color verde-amarillento. Éste alcanza desde 5 hasta 30 m de altura y un diámetro entre 13 a 40 cm. En el caso de *N. squamulosa*, la especie presenta un tronco simple que solamente ramifica cuando se producen traumatismos. El tronco alcanza un tamaño de 5 m. de altura y tiene un diámetro de entre 10 y 20 cm. Por otro lado, *N. sanchezmejoradae* presenta un tronco con ramificaciones, una altura de 12 m y un diámetro de entre 30 y 45 cm. Finalmente, *N. euphorbioides*, presenta un tallo simple que alcanza de 3 a 5 m de altura y de 10 a 15 cm de diámetro. Éste tiene una consistencia suave y es de color verde oscuro

### **Patrones y características de la ramificación**

En el género, se presentan diferentes tipos de tallo, que están definidos por el patrón de ramificación. Hay tallos columnares, de escasa ramificación y de tipo candelabriforme. Así, en *N. scoparia*, la ramificación es arborescente hasta de 4º orden, tiene ramas muy largas y ascendentes que alcanzan los 8 cm de diámetro. Por otro lado, en *N. tetetzo*, sus tallos son generalmente simples o bien, poco ramificados, con las ramas erectas y poco divergentes, de color verde grisáceo claro. En cuanto a *N. macrocephala*, se presentan formas más o menos ramificadas, las cuales alcanzan de 7 a 12 m de largo y de 30 a 40 cm de diámetro. Finalmente, en *N. polylopha*, *N. multiareolata*, *N. euphorbioides*, *N. mezcalaensis*, *N. sanchezmejoradae* y *N. squamulosa*, los tallos generalmente, no presentan ramificaciones o si las presentan, éstas se producen por traumatismos tanto en los tallos, como en los ápices.

### **Características de las costillas**

Las costillas en el género *Neobuxbaumia*, se describen con base en características tales como: número, tuberculación y depresiones areolares. En *N. scoparia*, se presentan de 14 a 25 costillas en las ramas primarias y hasta 30 en las ramas secundarias. Estas costillas son tuberculadas y tienen forma triangular, pueden ser agudas (ramas jóvenes) o redondeadas (ramas adultas) en corte transversal. Las costillas están provistas de depresiones interareolares muy marcadas. En *N. tetetzo*, se presentan de 13 a 17 costillas, presentan podarios ligeramente elevados y depresiones interareolares evidentes. En cuanto a *N. macrocephala*, se encuentran de 17 a 26 costillas, las cuales son obtusas. En *N. polylopha*, se presentan entre 22 y 36 costillas. Estas costillas tienen bordes sinuosos en las partes jóvenes y agudos en las partes adultas, también presentan depresiones interareolares. Por su parte, *N. multiareolata*, presenta costillas angostas y agudas, de forma triangular en corte transversal. También presenta depresiones interareolares. En *N. mezcalaensis*, se observan de 13 a 25 costillas angostas de y podarios provistos de una depresión interareolar angosta. En *N. squamulosa*, se presentan de 17 a 18 costillas, provistas de una depresión interareolar. Por otro lado, en *N. sanchezmejoradae*, se presentan 30 costillas y ligeras depresiones interareolares. Finalmente, *N. euphorbioides*, presenta de 8 a 10 costillas tuberculadas y un surco intercostal.

### **Características de las aréolas**

La descripción de las aréolas esta basada en su diámetro, la distancia que guardan entre sí y el tipo de fieltro que presentan. Así, en *N. scoparia*, las aréolas de las partes apicales jóvenes, tienen fieltro blanco-amarillento y son circulares, tienen un diámetro 2 a 3 mm y la distancia entre ellas es de 12 a 20 mm. En contraste, en las partes adultas, las aréolas poseen un fieltro grisáceo negrusco, tienen un diámetro de 10 a 15 mm y la distancia entre ellas es de 11 mm. En *N. tetetzo*, se presentan aréolas casi redondas, de 10 a 15 mm de diámetro. Ellas están provistas de abundante fieltro amarillo claro, cuando son jóvenes, y gris en las partes adultas. La distancia entre ellas es de 7 a 35 mm. En cuanto a *N.*

*macrocephala*, las aréolas tienen una forma obovado-triangular y poseen fieltro. Tienen un diámetro de 11 mm y están separadas entre sí por una distancia de 22 mm. En *N. polylopha*, se observan aréolas elípticas, casi circulares, con fieltro blanco en las partes jóvenes, y gris o negrusco en partes adultas. Ellas tienen 4 mm de diámetro y una distancia entre sí de 8 a 11 mm. En *N. multiareolata*, se observan aréolas circulares de 1.4 a 4 mm de diámetro, con fieltro amarillo que pronto ennegrece y una distancia entre sí, de aproximadamente 7 mm. Por otro lado, en *N. mezcalaensis*, se presentan aréolas obovado-deltaideas de 5 mm de diámetro, con fieltro blanco que con el tiempo se vuelve grisáceo y una distancia entre sí de 18 a 26 mm. En *N. squamulosa*, se presentan aréolas de 5 mm de diámetro, con una distancia entre sí, de aproximadamente 10 mm. En cuanto a *N. sanchezmejoradae*, se observan aréolas de 5 mm de diámetro, con una distancia entre sí, de aproximadamente 5 mm. Finalmente, en *N. euphorbioides*, las aréolas son casi circulares, tienen fieltro blanco y se encuentran a una distancia entre sí, de aproximadamente 1 cm .

### **Características de espinas centrales y radiales**

La descripción de las espinas se hace con base en su número, rigidez y longitud. Así, en *N. scoparia*, hay 5 espinas radiales. Éstas son aciculares, lisas y tienen de 5 a 13 mm de largo. Por otro lado, hay 1 o 2 espinas centrales que miden de 4 a 9 mm. En *N. tetetzo*, se presentan de 7 a 12 espinas radiales, de 5 a 20 mm de largo, mientras que las espinas centrales son de 1 a 3 y tienen una longitud de 3 a 4 cm. En cuanto a *N. macrocephala*, se observa que el conjunto de aréolas en el ápice, forma un pseudocefalio de color rojo. En cada aréola, se presentan de 8 a 12 espinas radiales y de 1 a 3 espinas centrales, una de ellas es subulada y las demás son aciculares. En *N. polylopha*, se presentan de 6 a 8 espinas radiales de 10 a 30 mm de largo y una sólo espina central de 14 a 30 mm de largo, la cual dirige su ápice hacia abajo. En *N. multiareolata*, las espinas radiales generalmente son de 3 a 6 y tienen una longitud de 4 a 35 mm. Así mismo, presenta una sólo espina central, de 12 a 35 mm de largo. En *N. mezcalaensis*, se presentan de 5 a 9 espinas radiales, las cuales son aciculares y alcanzan una longitud de 8 a 20



mm de largo. También presenta de 1 a 4 espinas centrales. En *N. squamulosa*, se observan 4 espinas radiales, de tipo acicular, con una longitud de 11 mm de largo. Así mismo, presenta una espina central de 22 mm de largo. En *N. sanchezmejoradae*, se presentan 4 espinas radiales de 10 cm de largo y 10 espinas centrales de 30 mm de largo. Por su parte, en *N. euphorbioides*, se observan de 1 a 3 espinas radiales de 4 a 26 mm de largo, así como una o 2 espinas centrales de hasta 4 cm de largo.

### **Características de las flores**

Las características que describen la morfología floral de las especies del género *Neobuxbaumia* incluyen tamaño, posición en la planta, hábito de apertura, color, forma del tubo, tamaño de estructuras (estigma, estilo, cavidad del ovario), entre otros datos. Así, en *N. scoparia*, se presentan flores pequeñas ubicadas cerca del ápice del tallo y en la mitad superior de las ramas. Éstas son campanuladas, de 30 a 45 mm largo (incluyendo el pericarpelo) y 32 mm de diámetro, y son de color crema-rosado. Ellas están recubiertas por escasos podarios, tienen un tubo receptacular infundibuliforme-campanulado muy ancho, que alcanza hasta 20 a 24 mm de largo. El estilo de estas flores es de 16 a 20 mm de largo, el estigma presenta 5 ó 6 lóbulos, la cavidad nectarial es de 7.9 mm y los estambres son numerosos. Éstas flores tienen hábitos nocturno-matutinos. En el caso de *N. tetetzo*, las flores se originan en el ápice de las ramas, tienen forma tubular-infundibuliforme y alcanzan hasta 7.2 cm de largo. Éstas flores son de color blanco-verdoso, el pericarpelo presenta podarios pequeños, el tubo receptacular llega a medir 4.5 cm. El estilo es de 3.4 cm con 7 lóbulos en el estigma. La cavidad nectarial es de 11.7 mm, carece de diafragma y los estambres son numerosos. Éstas flores tienen hábito nocturno. En *N. macrocephala*, las flores nacen arregladas en forma de corona cerca del ápice, alcanzan una longitud de 42 a 52 mm de largo y un diámetro de 21 a 28 mm. Éstas flores son de color morado, de forma infundibuliforme-campanulada, el pericarpelo está cubierto de podarios. El tubo receptacular es de 3.4 cm de largo. El estilo llega a medir 2.3 cm, con 7 lóbulos en el estigma. La cámara nectarial es evidente alcanzando 7 mm largo.

donde se observan funículos ramificados. También presentan estambres numerosos. Éstas flores tienen hábito nocturno. En *N. polylopha*, las flores se encuentran en aréolas no especializadas que carecen de lana y cerdas, nacen en el ápice o a lo largo de los tallos de la parte medio apical, son de tipo infundibuliforme-campanuladas, miden de 5 a 8 cm de largo y 35 a 45 mm de diámetro. Presentan un pericarpelo cilíndrico, rojizo cubierto de podarios grandes. El tubo receptacular es de 25 a 40 mm de largo y 10 a 12 mm de diámetro, además, las escamas del pericarpelo y el tubo receptacular están provistos de epipodarios glandulares. El tubo receptacular es de 3.8 cm, con un estilo de 24 mm y 8 lóbulos en el estigma. La cámara nectarial mide de 8 a 10 mm de largo, en ella se observan los óvulos arreglados en funículos ramificados. En ésta especie, las flores presentan hábito nocturnos. En *N. multiareolata*, las flores nacen a lo largo y cerca del ápice del tallo, son campanuladas, miden de 25 a 45 mm de largo y 12 mm de diámetro. El pericarpelo es subgloboso y presenta abundantes podarios, mientras que el tubo receptacular es infundibuliforme y mide de 15 a 25 mm de largo, el estilo tiene una longitud de 2.4 cm y presenta 5 lóbulos en el estigma. La cámara nectarial es de 9 mm y está casi cerrada por numerosos estambres primarios. En ésta especie, las flores presentan hábito nocturno. En *N. mezcalaensis*, las flores nacen a lo largo del tallo y son de color amarillo-verdoso a rojo-púrpura. Tienen una forma campanulada de 7 cm de longitud total y 5 cm diámetro, están recubiertas por podarios y el tubo receptacular mide 4.1 cm, con un estilo de 3.2 cm y 6 lóbulos en el estigma. Los estambres son numerosos, la cámara nectarial es de 13 mm, está ligeramente cerrada por los estambres primarios. En ésta especie, las flores presentan hábito nocturno-matutino. En *N. squamulosa*, las flores nacen en la parte media apical de los tallos y son de color verde claro con pericarpelos internos de color blanco. Tienen una forma campanulada de 8.6 cm de longitud total y 7.1 cm diámetro, están recubiertas por podarios y el tubo receptacular mide 6.5 cm, con un estilo de 6.2 cm y 11 lóbulos en el estigma. Los estambres son numerosos, la cámara nectarial es de 12 mm, En ésta especie, las flores presentan hábito nocturno-matutino. En *N. sanchezmejoradae*, las flores nacen en la parte apical del tallo. Tienen una forma

campanulada de 3.5 cm de longitud total y 1.3 cm diámetro, están recubiertas por podarios y el tubo receptacular mide 1.5 cm, con un estilo de 16 mm y 6 lóbulos en el estigma. La cámara nectarial es de 6 mm. En ésta especie, las flores presentan hábito nocturno-matutino. *N. euphorbioides*, las flores nacen a lo largo del tallo, son de tipo infundibuliforme y alcanzan de 6 a 8 cm de largo. Su pericarpelo presenta podarios y el tubo receptacular mide 3.7 cm, el estilo tiene una longitud de 26 mm y el estigma presenta 2 lóbulos. La cámara nectarial tiene una cavidad de 8.3 mm y los estambres son numerosos. Las flores tienen hábitos nocturnos.