



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
Instituto de Biología
Sistemática

**Delimitación de las especies de *Mammillaria*, serie *Polyedrae*
(Cactaceae)**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. DAVID ALEJANDRO AQUINO GARCÍA

Tutor principal: Dr. Ángel Salvador Arias Montes
Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM

Comité tutor: Dra. Isolda Luna Vega
Facultad de Ciencias, UNAM
Dr. David Sebastian Gernandt
Departamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM

MÉXICO, DF, SEPTIEMBRE, 2014.



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.

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

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 19 de mayo de 2014, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **AQUINO GARCÍA DAVID ALEJANDRO** con número de cuenta **98264849** con la tesis titulada "**Delimitación de las especies de Mammillaria, serie Polyedrae (Cactaceae)**", realizada bajo la dirección del **DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES**:

Presidente: DR. OSWALDO TÉLLEZ VALDÉS
Vocal: DR. DAVID SEBASTIAN GERNANDT
Secretario: DRA. JENY SOLANGE SOTUYO VÁZQUEZ
Suplente: DR. DAVID NAHUM ESPINOSA ORGANISTA
Suplente: DR. ELOY SOLANO CAMACHO

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 12 de agosto de 2014.

M. del Coro Arizmendi
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

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

Agradecimientos

Al Posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación adquirida durante mis estudios de maestría y al Jardín Botánico del Instituto de Biología, campus donde se efectuaron las prácticas correspondientes.

Al CONACYT por el apoyo otorgado mediante la beca 263558/413848 y que por medio del cual sirvieron para efectos de manutención durante mis estudios de maestría.

A los miembros del comité tutor:

Dr. Salvador Arias Montes por haber aceptado la propuesta inicial del proyecto y con su experiencia haber enriquecido el primer anteproyecto, además de su confianza depositada para llevar a cabo este trabajo, así como por la paciencia para revisar este manuscrito final.

Dr. David Sebastian Gernandt quien amablemente aceptó ser miembro del comité tutor y con sus sugerencias sobre el empleo de los marcadores moleculares enriqueció la propuesta inicial.

Dra. Isolda Luna Vega por haber aceptado formar parte del comité tutor, así como por sus críticas durante las sesiones de tutoría que sin duda contribuyeron a hacer las correcciones pertinentes para concluir la presente tesis.

Agradecimientos

A los miembros del jurado: Jeny Sotuyo Vázquez, Eloy Solano Camacho, David N. Espinosa Organista, Oswaldo Tellez Valdés y David S. Gernandt, quienes amablemente hicieron la revisión y propusieron las revisiones pertinentes a éste manuscrito. Nuevamente quiero expresar mi agradecimiento a los miembros del comité tutor: Salvador Arias Montes, David S. Gernandt e Isolda Luna Vega por sus observaciones a lo largo de estos cuatro semestres, gracias por su apoyo y su tiempo.

A la Dra. Lidia Cabrera responsable del Laboratorio de Sistemática Molecular del Instituto de Biología, gracias por su apoyo durante el proceso de obtención de las secuencias empleadas en este estudio y a la M. en C. Berenit Mendoza por su apoyo para la obtención de imágenes de las semillas con el microscopio electrónico de barrido.

Al Biól. Jerónimo Reyes por haber autorizado el acceso a la colección de cactáceas bajo su custodia y al Lic. Omar González Zorzano por la ayuda prestada durante la obtención de estructuras reproductivas de los organismos.

A los curadores Ing. Mario Veliz (BIGU), Biól. María de la Luz Arreguín Sánchez (ENCB), Dr. Joaquín Cifuentes Blanco (FCME); Dr. Oscar Dorado (HUMO), Dra. Hilda Arreola Nava (IBUG), M. en C. Edith López Villafranco (IZTA), Dr. David S. Gernandt (MEXU), Biol. Gabriel Ceren (MHES), M. en C. Silvia H. Salas-Morales (SERO), M. en C. Remedios Aguilar Santelises (OAX), M. en C. Sergio Avendaño Reyes (XAL) y al Dr. Armando López Ramírez (XALU) por las facilidades para la consulta de sus respectivas colecciones.

Al casi doctor Daniel Sánchez Carvajal por apoyarme en la colecta de campo, por el adiestramiento para el trabajo en el Laboratorio de Sistemática Molecular y por resolver mis dudas en el empleo del software para realizar las filogenias y a la Dra. Montserrat Vázquez-Sánchez por facilitarme algunas de las alícuotas de DNA por ella obtenidas durante sus estudios de doctorado.

A los profesores que laboran en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, en especial al M. en C. Armando Cervantes quien en todo momento apoyó con el análisis estadístico de los datos; al Biól. L. Ulises Guzmán Cruz por compartir sus conocimientos y sus opiniones sobre un género tan complejo como es *Mammillaria* y a la M. en C. Balbina Vázquez Benítez quien originalmente incentivó mi interés por las cactáceas y otras plantas suculentas. A los señores Eduardo y Raúl de la Torre, entusiastas cactófilos, fundadores del movimiento “Compacactus” y a Luis Emilio de la Cruz, antiguo compañero en el invernadero de la FES Zaragoza y conocedor de la familia Crassulaceae.

Finalmente pero no menos importante a mis compañeros del laboratorio de cactáceas: Cristian Cervantes, Miguel Cruz, la maestra Marisela Yañez, Héctor “El Doctor” Tapia, Isaura (apellido pendiente), Daniel Quezada, Jorge Blanco y Daniel Franco, a los que también les deseo suerte durante el desarrollo de sus proyectos.

Este trabajo está dedicado a

 Mi mamá Juliana García Gaspar

 Mi papá Leonor Aquino Rodríguez

 Mi hermana Beatriz Aquino García

Por su cariño, paciencia y comprensión en todos los momentos, tanto en los buenos como en los malos ratos, gracias.

CONTENIDO

RESUMEN	12
1. INTRODUCCIÓN	14
2. ANTECEDENTES	16
2.1 Características diagnósticas del género <i>Mammillaria</i>	16
2.2 El nombre <i>Mammillaria</i>	16
2.3 <i>Mammillaria</i> y su relación con otros géneros	16
2.4 Clasificación infragenérica	18
2.5 <i>Mammillaria</i> serie <i>Polyedrae</i>	20
2.6 La delimitación de especies en Cactaceae	23
3. OBJETIVOS	25
4. MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1 Revisión de literatura y herbario	26
4.2 Obtención de muestras	26
4.3 Delimitación de especies con caracteres morfológicos	28
4.3.1 Caracteres	28
4.3.2 Análisis canónico discriminante y clasificatorio	28
4.4 Delimitación de especies con caracteres moleculares	28
4.4.1 Taxones	28
4.4.2 Selección de las secuencias	28
4.4.3 Aislamiento del DNA genómico	29
4.4.4 Amplificación y secuenciación	29
4.4.5 Análisis molecular	31
4.5 Análisis filogenético con caracteres morfológicos	32
4.5.1 Taxones	32
4.5.2 Caracteres morfológicos	32
4.5.3 Matriz de datos	33
4.5.4 Análisis cladístico	33
4.6 Análisis filogenético con caracteres moleculares	34
4.6.1 Secuencias	34
4.6.2 Matriz de datos	34
4.6.3 Análisis cladístico y Bayesiano	34
4.7 Distribución geográfica	35

5. RESULTADOS	36
5.1 Delimitación de especies con caracteres morfológicos	36
5.2 Delimitación de especies con caracteres moleculares	41
5.3 Análisis filogenético con datos morfológicos	46
5.4 Análisis filogenético con datos moleculares	48
5.5 Distribución geográfica	51
6. DISCUSIÓN	56
6.1 Reconocimiento de las especies de <i>Mammillaria</i> serie <i>Polyedrae</i>	56
6.2 Relaciones filogenéticas de <i>Mammillaria</i> serie <i>Polyedrae</i>	67
6.3 Distribución de <i>Mammillaria</i> serie <i>Polyedrae</i>	68
7. CONCLUSIONES	70
8. REFERENCIAS	72
Apéndice 1. Especies reconocidas en el presente trabajo para <i>Mammillaria</i> serie <i>Polyedrae</i>	80
Apéndice 2. Clave de identificación para las especies de <i>Mammillaria</i> serie <i>Polyedrae</i>	93
Apéndice 3. Caracteres morfológicos empleados en la filogenia	94

FIGURAS Y CUADROS

- Figura 1. Análisis de las funciones canónicas discriminantes utilizando caracteres vegetativos y reproductivos, para los miembros de *Mammillaria* serie *Polyedrae* 38
- Figura 2. Comparación entre el número de caracteres variables para cada marcador utilizado en la delimitación de las especies de la serie *Polyedrae* 42
- Figura 3. Árbol de mayoría obtenido por inferencia Bayesiana resultado de la combinación de cuatro marcadores moleculares en el que se delimitan a las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae*. Cada terminal correspondiente a los individuos de la serie *Polyedrae* lleva el número de colecta que se indica en la discusión de los resultados 44
- Figura 4. Árbol de consenso estricto de los 504 más parsimoniosos con una longitud 182 pasos obtenido a partir de caracteres morfológicos. En rojo el clado correspondiente a las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae* y sobre la rama los caracteres y los estados que lo definen. La cifra de lado derecho corresponde al valor de *bootstrap* y a la izquierda el valor de *Jackknife* y el valor ubicado en la parte superior corresponde al número de carácter y el valor inferior es el estado, los cuales se detallan en el apéndice 3 47
- Figura 5. Árbol de consenso estricto de los 102 más parsimoniosos con una longitud 452 pasos obtenido a partir de cuatro marcadores moleculares (*matK*, *psbA-trnH*, *rpl16* y *trnQ-rps16*). En color rojo el clado correspondiente a las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae*. La cifra de lado derecho corresponde al valor de *bootstrap* y a la izquierda el valor de *Jackknife* 49
- Figura 6. Árbol de mayoría obtenido por inferencia Bayesiana a partir de cuatro marcadores moleculares (*matK*, *psbA-trnH*, *rpl16* y *trnQ-rps16*). En color rojo el clado correspondiente a las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae*. Las cifras corresponden a los valores de probabilidad posterior 50
- Figura 7. Mapa de distribución de las tres series que integran a la sección *Mammillaria*: *Polyedrae*, *Mammillaria* y *Leucocephalae* 52
- Figura 8. Mapa de distribución de las especies reconocidas para *Mammillaria* serie *Polyedrae* 53
- Figura 9. Mapa de distribución de las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae* distribuidas en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y zonas adyacentes 54
- Figura 10. Especies reconocidas para *Mammillaria* serie *Polyedrae*, así como localidades de procedencia: A) *M. beisei*, Islas Mariás NAY. (JJB128), B) *M. carnea*, Ajalpan PUE. (DA241), C) y D) *M. erythra*, Acultzingo VER. (DA255). *M. karwinskiana*: E) Mitla OAX. (DA247) y F) Sta. Ana Tavela OAX (DA252). G) *M. knippeliana*, Cuernavaca MOR. (DA261). *M. mystax*: H) Tehuacán PUE. (DA225), I) Suchixtlahuaca OAX. (DA231) y J) Miltepec, OAX (DA238). *M. polyedra*: K) Ixtaltepec OAX. (DA38), L) Río del Oro, Oax. (DA234) y LI) El 66

Papayo Pue. (DA239). M) *M. sartorii*, Jalcomulco VER. (DA245), N) *M. varieaculeata*, Calipán, PUE. (UG1091) y *M. voburnensis*: Ñ) La Mata OAX. (DA269), O) Río Negro GUATEMALA (MV19786) y P) Metapán EL SALVADOR (GC2591). Fotos D. Aquino y S. Arias.

Figura 11. Tipo de ramificación: los taxones pueden A) no ramificar (*Coryphantha calipensis*), **94**
B) ramificar a partir de brotes laterales (*Mammillaria sartorii*) o C) ramificar dicotómicamente
(*M. karwinskiana*). Foto D. Aquino.

Figura 12. Ángulo ventral del tubérculo: A) ausentes (*Mammillaria magnimamma*) o B) **95**
presentes (*M. polyedra*). Foto D. Aquino.

Figura 13. Surco sobre el tubérculo: A) ausente (*Mammillaria sartorii*) o B) presente **96**
(*Escobaria missouriensis*). Foto D. Aquino.

Figura 14. Presencia de tricomas en las axilas del tubérculo: A) ausentes como en **96**
Mammillaria heyderi o B) presentes como en *M. voburnensis*. Foto D. Aquino.

Figura 15. Cerdas en las axilas de los tubérculos: A) ausentes (*Mammillaria magnimamma*) o **97**
B) presentes (*M. erythra*). Foto D. Aquino.

Figura 16. Forma de la aréola: A) orbiculares (*Mammillaria voburnensis*), B) ovaladas (*M. **97***
albilanata) y C) obovadas (*M. magnimamama*). Foto D. Aquino.

Figura 17. Distinción entre espinas radiales y centrales: A) Indistinguibles (*Mammillaria **98***
karwinskiana) o B) Distinguibles (*M. voburnensis*). Foto D. Aquino

Figura 18. Presencia de espinas centrales: A) ausentes (*Mammillaria lasiacantha*) o **98**
presentes (*M. mystax*). Foto D. Aquino.

Figura 19. Forma de las espinas centrales: A) subuladas (*Mammillaria discolor*) o B) **99**
aciculares (*M. uncinata*). Imágenes tomadas y modificadas de Moreno (1984).

Figura 20. Forma del ápice de las espinas centrales: A) rectas (*Mammillaria albilanata*) o B) **99**
uncinadas (*M. uncinata*). Foto D. Aquino.

Figura 21. Zonas de donde emerge la flor: A) apical (*Coryphantha calipensis*) o B) subapical **100**
(*Mammillaria karwinskiana*). Foto D. Aquino.

Figura. 22. Forma de los tépalos externos e internos: A) lanceolados, B) linear-lanceolados, **101**
C) lineares; D) espatulados y E) oblongos. Imágenes tomadas y modificadas de Moreno
(1984).

- Figura 23. Margen de los tépalos externos: A) Enteros (*Mammillaria heyderi*); B) acerrados (*M. albilanata*); C) ciliados (*M. mystax*). Imágenes tomadas y modificadas de Moreno (1984). **101**
- Figura 24. Ápice de los tépalos externos e internos: A) obtusos, B) agudos y C) acuminados. Imágenes tomadas y modificadas de Moreno (1984). **102**
- Figura 25. El color de los tépalos internos: A) rosados (*Mammillaria carnea*), B) amarillos (*M. karwinskiana*), C) blancos (*M. magnimamma*) y D) magenta (*Pelecypora strobiliformis*). Foto D. Aquino. **102**
- Figura 26. Forma de los frutos: A) claviformes (*Mammillaria lasiacantha*) y B) globosos (*Neolloydia conoidea*). Foto D. Aquino **103**
- Figura 27. Color del fruto: A) verdes (*Coryphantha calipensis*); B) rojos (*Mammillaria mystax*) y C) rosados (*M. polyedra*). Foto D. Aquino **104**
- Figura 28. Detalle de semillas atrapadas entre los tubérculos de *Ortegocactus macdougallii* (Foto D. Aquino). **105**
- Figura 29. Forma de las células de la testa A) isodiamétrica (*Ortegocactus macdougallii*, foto tomada de Barthlott y Hunt, (2000) y B) elongadas (*Mammillaria heyderi*). Foto B. Mendoza. **106**
- Figura 30. Relieve de la pared de las células anticlinales: A) plano (*Coryphantha calipensis*); B) acanalado (*Neolloydia conoidea*). C) elevado (*Mammillaria albilanata*). Foto B. Mendoza. **106**
- Figura 31. Curvatura de la pared periclinal: A) rectas (*Escobaria missouriensis*); B) ondulaciones tipo-omega (*Mammillaria mystax*); C) ondulaciones tipo-U (*M. magnimamma*) y D) ondulaciones tipo-S (*M. lasiacantha*). Foto B. Mendoza, figura D) tomada de Barthlott y Hunt (2000). **107**
- Figura 32. Configuración de la región hilo-micropilar: A) disyuntos (*Mammillaria karwinskiana*) o B) fusionados por una banda de tejido esclerificado (*M. voburnensis*). Foto D. Aquino. **108**
- Figura 33. Forma de la región hilo-micropilar: A) ovaladas (*Mammillaria polyedra*) y B) Tipo ojo de cerradura (*Coryphantha calipensis*). Foto B. Mendoza. **108**
- Cuadro 1. Comparación entre el sistema de clasificación infragenérica propuesto por Lüthy (1995) y Hunt (2006), así como el reconocimiento y posición de la serie *Polyedrae*. **19**
- Cuadro 2. Especies incluidas en la serie *Polyedrae* por diferentes autores. (Los sinónimos están entre paréntesis). **22**

Cuadro 3. Relación de localidades visitadas para la obtención de ejemplares, así como algunas observaciones en referencia a estas.	27
Cuadro 4. Programas para la amplificación de los cuatro marcadores empleados en la delimitación de especies y la filogenia de la serie <i>Polyedrae</i> .	30
Cuadro 5. Caracteres morfológicos empleados para la delimitación de especies y sus coeficientes canónicos para las funciones uno y dos. (En negritas los tres valores con mayor peso para cada función canónica).	36
Cuadro 6. Análisis clasificatorio para 17 taxones pertenecientes a la serie <i>Polyedrae</i> . (E = especie identificada <i>a priori</i> ; t = número de individuos.1.- <i>M. aff mystax</i> , 2.- <i>M. carnea</i> , 3.- <i>M. casoj</i> , 4.- <i>M. erythra</i> , 5.- <i>M. huajuapensis</i> , 6.- <i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>beiselii</i> , 7.- <i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>karwinskiana</i> , 8.- <i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>nejapensis</i> , 9.- <i>M. knippeliana</i> , 10.- <i>M. mixtecensis</i> , 11.- <i>M. mystax</i> , 12.- <i>M. polyedra</i> , 13.- <i>M. sartorii</i> , 14.- <i>M. varieaculeata</i> , 15.- <i>M. voburnensis</i> subsp. <i>collinsii</i> , 16.- <i>M. voburnensis</i> subsp. <i>eichlamii</i> , 17.- <i>M. voburnensis</i> subsp. <i>voburnensis</i>).	40
Cuadro 7. Resumen de la información obtenida por cada marcador.	41
Cuadro 8. Síntesis de los cambios observados en el alineamiento general y que definieron a las especies delimitadas con marcadores moleculares. * Cambio ocurrido en la terminal <i>M. polyedra</i> _DA234, ** Cambio ocurrido en la terminal <i>M. polyedra</i> _DA38. *** Cambio ocurrido en la terminal <i>M. polyedra</i> _DA239.	45
Cuadro 9. Taxones empleados en el análisis filogenético.	46
Cuadro 10. Especies de la serie <i>Polyedrae</i> y su distribución por ambientes y por límites políticos. Clave para los tipos y asociaciones vegetales: BTC: Bosque tropical caducifolio, BTS: Bosque tropical subcaducifolio, BE: Bosque espinoso, BPQ: Bosque de <i>Pinus</i> y <i>Quercus</i> , BQ: Bosque de <i>Quercus</i> , MX: matorral xerófilo, PZ: pastizal, VR: vegetación asociada a corrientes de agua. Clave para los países y estados: Cha: Chiapas, Col: Colima, Jal: Jalisco, Mich: Michoacán, Mor: Morelos, Nay: Nayarit, Oax: Oaxaca, Pue: Puebla, Ver: Veracruz, SAL: El Salvador, GT: Guatemala, HON: Honduras, MX: México y NIC: Nicaragua.	55

RESUMEN

Mammillaria es uno de los dos géneros más diversos de la familia Cactaceae con 163 especies, sin embargo los estudios sobre su delimitación escasos. La presente tesis se enfoca en la delimitación taxonómica de las especies de la serie *Polyedrae*, una de las 16 series de *Mammillaria*. Se plantearon tres preguntas: 1) ¿Cuántas especies integran a la serie *Polyedrae*? 2) ¿*Polyedrae* es un grupo monofilético? y 3) ¿Es posible reconocer un patrón de distribución para *Polyedrae*? Para cumplir éste objetivo se exploraron evidencias morfológicas y moleculares. *A priori* se identificaron 17 taxones de 30 localidades estudiadas. Se analizaron 19 caracteres (nueve vegetativos y diez reproductivos) mediante un Análisis Canónico Discriminante, se registró que los caracteres con mayor peso en la agrupación fueron el largo y el ancho de la aréola, la longitud de cerdas, el número y la longitud de espinas radiales y la longitud de flores. En tanto que el Análisis Canónico Clasificadorio recuperó en 95% o más, a los individuos correspondientes a ocho especies dentro de su propio conjunto. De los individuos colectados en cada una de las 30 localidades se obtuvo de una a tres muestras de tejido, a partir de las cuales se secuenciaron cuatro marcadores moleculares: *matK*, *psbA-trnH*, *rpl16* y *trnQ-rps16*. *Mammillaria beiselii*, *M. mystax*, *M. sartorii* y *M. varieaculeata* se delimitaron con caracteres morfológicos y moleculares. Solo *Mammillaria erythra* se reconoció con marcadores moleculares. *Mammillaria carnea*, *M. karwinskiana*, *M. knippeliana* y *M. voburnensis* se reconocieron solo con caracteres morfológicos. *Mammillaria polyedra* fue delimitada con caracteres morfológicos, pero los marcadores moleculares indican posibles eventos de introgresión. La serie *Polyedrae* es monofilética utilizando caracteres morfológicos (mediante parsimonia) y moleculares (parsimonia e Inferencia Bayesiana). La monofilia se define por una sinapomorfía morfológica y cinco moleculares con el marcador *rpl16*. Se apoya la hipótesis de un origen monofilético de las series *Mammillaria* + *Leucocephalae* + *Polyedrae*. Se obtuvieron datos sobre la distribución geográfica de las especies de *Polyedrae* a partir de colectas y registros de herbario, los cuales se analizaron mediante sistemas de información geográfica. Las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae* tienen como límite norte la Faja Volcánica Transmexicana y hacia el sur la Meseta de los Pueblos en Nicaragua. Las cadenas montañosas y estribaciones geográficas de la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre del Sur son importantes en la distribución y aislamiento de las especies de la serie *Polyedrae*. En el valle de Tehuacán-Cuicatlán se encuentra el mayor número de especies de *Polyedrae* y dos son endémicas para el área.

ABSTRACT

Mammillaria is one of the two most diverse genera of Cactaceae with 163 species; however species delimitation studies are scarce for the genus. This thesis focuses on species delimitation in series *Polyedrae*, one of the 16 series that make up the genus *Mammillaria*. Three questions were addressed: 1) How many species comprise series *Polyedrae*? 2) It a monophyletic group? And 3) Can a pattern of distribution be recognized? To answer these questions, morphological and molecular evidence was explored. Seventeen taxa were identified *a priori* for 30 study localities. Nineteen morphometric characters (9 vegetative and 10 reproductive) were analyzed using canonical discriminant analysis. Characters with the highest discriminating power were the length and width of the areola, length of bristles, number and length of radial spines and length of flowers. Classification discriminant analysis correctly assigned individuals to eight species 95% or more of the time. One to three tissue samples were obtained from individuals collected in each of the 30 locations, from which four chloroplast DNA markers were sequenced: *matK*, *psbA-trnH*, *rpl16* and *trnQ-rps16*. Morphological and molecular characters distinguish *Mammillaria beiselii*, *M. mystax*, *M. sartorii*, and *M. varieaculeata*. Molecular markers alone also recognized *M. erythra*. Only morphological characters distinguished *M. carnea*, *M. karwinskiana*, *M. knippeliana*, and *M. voburnensis*. *Mammillaria polyedra* was defined by morphological characters, but the molecular markers indicate probable introgression events. Series *Polyedrae* is monophyletic based on morphological (using parsimony) and molecular characters (parsimony and Bayesian inference). One morphological synapomorphy plus five molecular synapomorphies in *rpl16* supported monophyly of *Polyedrae*. The results support the hypothesis of a monophyletic origin of series *Mammillaria* + *Leucocephalae* + *Polyedrae*. Distribution of *Polyedrae* species was obtained from herbarium collections and records, and analyzed using geographic information systems. *Polyedrae* is bounded to the northern by the Mexican Transverse Volcanic Belt and to the south by the Meseta de los Pueblos, Nicaragua. The mountain ranges and geographical foothills of the Sierra Madre Oriental and Sierra Madre del Sur are important in the distribution and isolation of species series *Polyedrae*. The Tehuacán-Cuicatlán Valley has the greatest number of *Polyedrae* species, two of which are endemic.

1. INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae comprende a un grupo de plantas suculentas y semisuculentas con formas de crecimiento que varían de globosas, pasando por formas globoso-deprimidas, cilíndricas a columnares (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2012). La morfología de las cactáceas es común a la de las otras plantas con semillas; sin embargo, los tallos, las flores, los frutos y las semillas han pasado por procesos de reducción o fusión, para sobrevivir tanto en ambientes áridos como en sitios donde la humedad es mayor a la requerida por estos organismos (Bravo-Hollis, 1978). Se distribuye en el continente americano incluyendo las islas adyacentes, teniendo dos importantes centros de diversidad: en los cuatro grandes desiertos de América del Norte y zonas contiguas, así como en las estribaciones centrales de los Andes y en las zonas áridas y subtropicales de Brasil en América del Sur (Arias, 1997). A partir de la calibración de relojes moleculares, se ha estimado que esta familia se diversificó rápidamente a finales del Mioceno y principios del Plioceno, periodo en el que los cambios en el régimen pluvial originó zonas desérticas (Arakaki *et al.*, 2011).

Evidencias morfológicas y moleculares han apoyado la monofilia de la familia Cactaceae. Todas las cactáceas poseen una estructura morfológica derivada y compartida: la aréola (Anderson, 2001). Por otro lado, Nyffeler (2002), utilizando secuencias del cloroplasto (región *trnK/matK* y espaciador *trnL-trnF*), ha confirmado la monofilia de Cactaceae.

La familia Cactaceae se conforma por 124 géneros, 1438 especies y 378 subespecies (Hunt, 2006), mientras que para México se tienen registrados aproximadamente 65 géneros, 674 especies y 235 subespecies, de los cuales, 28 géneros, 529 especies y 189 subespecies son endémicas (Guzmán, 2009). El número de especies reconocidas ha cambiado a través del tiempo, en parte porque se han descubierto nuevos taxones, pero también por el desconocimiento de la variación y de los cambios morfológicos que sufren en su desarrollo; la falta de datos sobre su distribución geográfica y de criterios poco precisos para considerar si una especie es válida o no (Sánchez-Mejorada, 1982). Como consecuencia de la inestabilidad taxonómica no hay un catálogo biológico confiable que permita el diseño de estrategias para el aprovechamiento de los recursos de una región o país (Dirzo y Raven, 1994). Por otra parte se han detectado inconsistencias en los listados de especies protegidas tanto nacionales como la NOM-059-ECOL-2010, como internacionales en el caso de la Lista Roja de la UICN y CITES que son vitales para la administración adecuada de los recursos naturales por parte de agencias

gubernamentales, sectores académicos y privados (Arias *et al.*, 2005). Este hecho cobra mayor relevancia en un país como México, el cual es reconocido como importante centro de riqueza específica para la familia Cactaceae, siendo *Mammillaria* uno de los géneros mejor representados con 173 especies y 90 subespecies (Guzmán, 2009).

Los caracteres morfológicos han sido empleados para delimitar especies. Algunas ventajas que ofrece el empleo de caracteres morfológicos es que se pueden incluir especímenes preservados, sobre todo si éstos ya se han extinto y el costo es relativamente accesible (Hillis, 1987). Una de las principales desventajas es el acceso a las estructuras reproductivas ya que pueden tardar hasta un año en desarrollarse, así como el polimorfismo en los caracteres (Duminil y Michele, 2009). Una herramienta nueva es el empleo de una secuencia corta de DNA que además de delimitar especies, se plantea que a futuro se disponga de una base de datos en un dispositivo que facilite la identificación y con ello proponer un método estándar para procesar muestras (De Salle *et al.*, 2005). El principal inconveniente es que si un gen particular está evolucionando lentamente en relación con la tasa de especiación o si el fragmento de la secuencia es demasiado pequeño, no habrá suficiente variación de nucleótidos para distinguir a las especies (Fazekas *et al.* 2009). Autores como Packer *et al.* (2009), enfatizan en que es posible delimitar especies usando secuencias de DNA con mayor precisión que usando caracteres morfológicos, por lo que a juicio de los autores los caracteres morfológicos deben demeritarse. Wiens (2007) sostiene que estos dos enfoques se pueden complementar, ya que si dos especies se distinguen una con respecto a otra por una o más diferencias morfológicas y son consistentes, es de suponer entonces que cada diferencia morfológica tiene una base genética que la sostenga. A su vez se pueden complementar con datos geográficos, ya que cada especie al presentar un área de distribución geográfica limitada, tanto por factores ecológicos y evolutivos puede dar lugar a procesos de especiación particularmente en especies alopátricas.

Ante el surgimiento de nuevos métodos para delimitar especies se realizó este trabajo que pretende abordar el reconocimiento de especies morfológicamente semejantes y que integran a *Mammillaria* serie *Polyedrae*, empleando tanto caracteres morfológicos como moleculares.

2. ANTECEDENTES

2.1 Características diagnósticas del género *Mammillaria*

De acuerdo con Haworth (1812) y Hunt (2006), las especies del género *Mammillaria* son plantas monopódicas o simpódicas; forma globosa a cortamente cilíndricas; tubérculos presentes en el tallo con diferentes formas (gibosos, piramidales a cónicos) y tamaños; látex de consistencia acuosa, semilechosa o lechosa; aréolas dimórficas; axilas desnudas o cubiertas con tricomas y cerdas; espinas diferenciadas en radiales y centrales, pudiendo estar ambas presentes o un conjunto de ellas; flores infundibuliformes a tubulares de longitud variable, diurnas, que emergen en torno al ápice o próximo a éste y sin ornamentos en el pericarpelo; frutos conspicuos o hundidos parcial o totalmente en el tallo; oblongos o claviformes; color rosado, rojos o verdes; semillas orbiculares, ovadas o ampliamente ovadas; con ornamentación diversa, de color negro a pardo en diferentes tonalidades. Se distribuye desde el sur de Estados Unidos de América, México, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, así como en las Antillas, Colombia y Venezuela (Pilbeam, 1999); estableciéndose desde el nivel del mar hasta más de 3000 metros de altitud, en matorrales xerófilos, bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios y en ocasiones en bosques de *Pinus* y *Quercus* (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

2.2 El nombre *Mammillaria*

Mammillaria fue propuesto como género por Haworth (1812), siendo la especie tipo *Cactus (Mammillaria) mammillaris*. Britton y Rose (1923) señalaron que el nombre *Mammillaria* había sido aplicado a un grupo de algas en 1809, por lo tanto propusieron *Neomammillaria* como nombre nuevo, designando como especie tipo a *Neomammillaria simplex* Haw. La propuesta no fue aceptada ya que la lectotipificación siguió los lineamientos del Código de Rochester, el cual no era aceptado por los botánicos europeos (Mottram, 1993). En el V Congreso Internacional de Botánica se llegó al acuerdo de que el nombre *Mammillaria* se conservara para la familia Cactaceae puesto que nunca se aplicó al grupo de algas en cuestión (Anderson, 2001). Además, se corroboró como especie tipo a *Mammillaria mammillaris* (L.) Karsten, puesto que *M. simplex* es un nombre ilegítimo (Mottram, 1993).

2.3 *Mammillaria* y su relación con otros géneros

El género *Mammillaria* forma parte de la tribu Cactaeae, esta tribu comprende plantas con formas globosas a cortamente cilíndricas y las flores presentan diferentes grados de

simplificación (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). La tribu se distribuye principalmente en Canadá, Estados Unidos de América y México, aunque sólo algunas especies se encuentran en las Antillas, Colombia y Venezuela (Anderson, 2001).

Estudios filogenéticos recientes, usando marcadores moleculares, indican que la tribu Cacteeae es un grupo monofilético (Butterworth *et al.*, 2002; Bárcenas *et al.*, 2011; Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013). Entre las relaciones encontradas al interior de la tribu, destaca un clado denominado “mammilloide” (Butterworth *et al.*, 2002), integrado por *Coryphantha*, *Escobaria*, *Mammillaria*, *Neolloydia*, *Ortegocactus* y *Pelecocyphora*. El aspecto más representativo de la morfología es que los tallos están provistos de tubérculos y el pericarpelo es desnudo o con brácteas rudimentarias y escasas (Butterworth *et al.*, 2002). Hernández-Hernández *et al.* (2011) a partir de la reconstrucción de caracteres ancestrales, explican que probablemente los miembros de la tribu Cacteeae se derivaron de ancestros cuyos tallos eran globosos, solitarios, erectos y con tubérculos.

Vázquez-Sánchez *et al.* (2013) a partir de la filogenia de la tribu Cacteeae y por medio de la calibración de un reloj molecular, se infirió como lugar de origen a la Sierra Madre Oriental a partir del cual ocurrieron seis eventos de dispersión: un primer evento hacia el Altiplano Central, posteriormente cinco eventos de radiación y diversificación hacia las provincias fisiográficas de California, Baja California, Sierra Madre del Sur, Depresión del Balsas y el Eje Neovolcánico, evento importante ya que en este sitio se diversificaron los géneros *Coryphantha* y *Mammillaria* principalmente.

Buxbaum (1950) realiza un estudio morfológico comparativo de flores, semillas, perispermo y el desarrollo del embrión de algunas especies de *Mammillaria* y las comparó con otros géneros (p. ej. *Coryphantha*, *Escobaria*, *Neolloydia*, *Thelocactus*). Registró que las estructuras de la flor y semilla diferían entre las especies delimitadas dentro de *Mammillaria* y a la vez eran semejantes a la de otros géneros de Cacteeae (p. ej. *Neolloydia* y *Escobaria*) y que la ausencia de perispermo solo ocurría en un grupo particular de *Mammillaria*, mientras que algunas etapas del desarrollo embrionario es común entre *Mammillaria* y *Coryphantha* y concluyó que no era un grupo natural. Butterworth y Wallace (2004) realizaron la primera filogenia con caracteres moleculares para *Mammillaria* (intrón *rpl16* y espaciador *psbA-trnH*), concluyendo que el grupo no es monofilético y que la circunscripción genérica actual es resultado de convergencias evolutivas, eventos de

especiación reciente, así como procesos de hibridación. Por otra parte Harpke y Peterson (2006) analizando la región del espaciador transcrito interno de ADN ribosomal del núcleo (la región del ITS) llegaron a la conclusión de que la tasa de evolución concertada en *Mammillaria* ha sido lenta, por lo que no se ha homogeneizado esa región del genoma.

2.4 Clasificación infragenérica

La primera propuesta de clasificación fue de Pfeiffer (1837) quien dividió a *Mammillaria* en *Homoeacanthae* y *Heteracanthae*, tomando como criterio la presencia de espinas radiales y centrales. Schumann (1898) tomó en cuenta otro conjunto de caracteres como la consistencia del látex, la morfología de los tubérculos y la forma de las flores y propuso una clasificación reconociendo cuatro subgéneros, dos secciones y once series. Hunt (1971) propuso modificaciones a la clasificación de Schumann, otorgando valor taxonómico a la morfología seminal, además consideró que era importante la distribución geográfica de los taxones, por ello reconoció cinco subgéneros, tres secciones y 11 series.

Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991), en su tratamiento para *Mammillaria*, conjuntan ideas de Buxbaum (1950) con la propuesta de Hunt (1971), dando como resultado el reconocimiento de diez subgéneros, dos secciones y 13 series, segregando cuatro subgéneros reconocidos por Hunt (1971) a nivel de género (*Dolichothele*, *Cochemiea*, *Mammillopsis* y *Oehmea*).

Lüthy (1995) realizó un análisis fenético apoyado en caracteres morfológicos, complementándolo con datos bioquímicos y ecológicos, dando un total de 121 unidades operativas para poner a prueba las clasificaciones anteriormente citadas. Después de analizar el conjunto de atributos pudo reconocer cinco subgéneros, seis secciones y 22 series, la cual se ajusta parcialmente con clasificaciones previas, principalmente con la propuesta por Hunt (1971). Por otra parte, el autor consideró que los géneros *Dolichothele*, *Cochemiea*, *Mammillopsis* y *Oehmea* se deben reintegrar a *Mammillaria*, pues no hay diferencias entre los caracteres que permitan retenerlas como géneros independientes (Cuadro 1). Butterworth y Wallace (2004) confirman que *Cochemiea*, *Dolichothele*, *Mammillopsis* y *Oehmea* representan clados dentro de *Mammillaria*. Sólo algunas series reconocidas por los autores anteriormente citados se recuperan como grupos monofiléticos, estas son: *Polyacanthae*, *Supertextae* y *Polyedrae*. En contraparte, algunas series como *Leucocephalae*, *Mammillaria*, *Ancistracanthae*, *Stylothelae* y

Lasiacanthae no son grupos monofiléticos y en el caso particular de la serie *Stylothelae*, los análisis sugieren que en realidad se puede dividir en dos series, resultado que coincide con la propuesta de Lüthy (1995).

Hunt (2006) en conjunto con la Organización Internacional para el Estudio de las Plantas Suculentas (IOS) hace una recopilación de los estudios anteriores reconociendo seis subgéneros, tres secciones y 16 series, la cual se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Comparación entre el sistema de clasificación infragenérica propuesto por Lüthy (1995) y Hunt (2006), así como el reconocimiento y posición de la serie *Polyedrae*.

Clasificación de Lüthy (1995)	Clasificación de Hunt (2006)
Género <i>Mammillaria</i>	Género <i>Mammillaria</i>
Subgéneros <i>Oehmea</i>	Subgéneros <i>Oehmea</i>
<i>Dolichothele</i>	<i>Dolichothele</i>
<i>Cochemiea</i>	<i>Cochemiea</i>
Series <i>Ancistracanthae</i>	<i>Mammillopsis</i>
<i>Bartschella</i>	<i>Phellospherma</i>
<i>Cochemiea</i>	<i>Chilita</i>
Subgénero <i>Phellospherma</i>	Subgénero <i>Krainzia</i>
Sección <i>Archiebnerella</i>	Series <i>Herrerae</i> + <i>Pectiniferae</i>
Series <i>Phellospherma</i>	<i>Longiflorae</i>
<i>Zephyranthoides</i>	Subgénero <i>Mammillaria</i>
Sección <i>Krainzia</i>	Sección. <i>Hydrochilus</i>
Series <i>Herrerae</i>	Series <i>Ancistracanthae</i>
<i>Longiflorae</i>	<i>Stylothelae</i>
<i>Pectiniferae</i>	<i>Lasiacanthae</i>
Sección <i>Mammillopsis</i>	<i>Leptocladodae</i>
Subgénero <i>Mammillaria</i>	<i>Sphacelatae</i>
Sección <i>Cylindricothelae</i>	<i>Proliferae</i>
Series <i>Bombycinae</i>	<i>Decipientes</i>
<i>Stylothelae</i>	Sección. <i>Subhydrochilus</i>
<i>Proliferae</i>	Series <i>Heterochlorae</i>
<i>Lasiacanthae</i>	<i>Polyacanthae</i>
<i>Sphacelatae</i>	<i>Rhodantae</i>
Sección <i>Conoidothelae</i>	<i>Supertextae</i>
Series <i>Leptocladodae</i>	Sección. <i>Mammillaria</i>
<i>Decipientes</i>	Series <i>Leucocephalae</i>
<i>Heterochlorae</i>	<i>Polyedrae</i>
<i>Rhodanthae</i>	<i>Mammillaria</i>
<i>Polyacanthae</i>	
<i>Supertextae</i>	
Sección <i>Mammillaria</i>	
Series <i>Leucocephalae</i>	
<i>Polyedrae</i>	
<i>Mammillaria</i>	

2.5 *Mammillaria* serie *Polyedrae*

Esta fue descrita por Schumann (1898) a partir de una propuesta inicial de Pfeiffer (1837), usando a *Mammillaria polyedra* como especie tipo. Los miembros de esta serie se caracterizan por presentar látex de consistencia lechosa; tubérculos piramidales más o menos angulados o poliédricos con el ápice obtuso; presencia de cerdas en las axilas excepto en *M. carnea*; espinas radiales diferenciadas o indiferenciadas con respecto a las espinas centrales; semillas de color castaño y células de la cubierta seminal con paredes foveoladas (Schumann, 1898; Hunt, 1977a; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). Se distribuye en México tanto en los estados de la vertiente del Pacífico (Colima, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Morelos y Chiapas), como en la vertiente del Golfo (Veracruz) y continúa a través de Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua (Pilbeam, 1999).

Schumann (1898) reconoció cinco especies para la serie: *Mammillaria polyedra*, *M. karwinskiana*, *M. pyrrocephala*, *M. mutabilis* y *M. praelii*. Hunt (1971) reconoció diez especies *M. carnea*, *M. compressa*, *M. collinsii*, *M. eichlamii*, *M. karwinskiana*, *M. mystax*, *M. nejapensis*, *M. orcuttii*, *M. polyedra* y *M. sartorii*, además indicó que probablemente era un grupo muy cercano a la serie *Macrothelae* (= *Mammillaria*). Hunt (1977a) excluyó a *M. compressa* de la serie *Polyedrae* y la clasificó en la serie *Macrothelae* (= *Mammillaria*) porque no se distribuye en el área señalada para *Polyedrae* (sur de México y Centroamérica).

Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) reconocieron 19 especies (Cuadro 2). Siguiendo la propuesta de Hunt (1977a), estos autores aceptaron la inclusión de *Mammillaria compressa* como parte de la serie *Macrothelae* (= *Mammillaria*). Esta especie fue incluida en una categoría informal propuesta por Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) como grupo *M. magnimmama*, el cual incluye a las especies que se distribuyen en el Altiplano Central y zonas adyacentes. Reppenhagen (1992) reconoció 17 especies y tres variedades para la serie, dividiéndola en tres grupos taxonómicos informales, los cuales comparten atributos de las espinas y color de la flor: grupo *M. polyedra*, el cual se caracteriza por presentar espinas indiferenciadas y flores rosadas; grupo *M. karwinskiana*, delimitado por la presencia de flores amarillas y espinas diferenciadas o indiferenciadas y finalmente el grupo *M. mystax*, el cual se reconoce por presentar espinas radiales y centrales diferenciadas, así como flores rosadas en diferentes tonalidades (Cuadro 2). Por otro lado,

sin dar una explicación, éste autor no incluyó dentro de la serie a *M. compressa* y *M. orcutii*. Lüthy (1995) reconoció seis especies para la serie *Polyedrae*: *M. carnea*, *M. karwinskiana*, *M. knippeliana*, *M. mystax*, *M. polyedra* y *M. voburnensis*, pero excluyó a *M. orcuttii* y *M. compressa*, puesto que la morfología de las semillas indicaba mayor relación con *M. magnimamma* y otras especies de la sección *Mammillaria*.

Hunt (2006, 2012) reconoció ocho especies (Cuadro 2), de las cuales dos no están bien delimitadas: *Mammillaria varieaculeata*, la cual considera como provisionalmente reconocida puesto que es una especie poco estudiada y que por su morfología es probable que sea de origen híbrido, así como *M. karwinskiana*, la cual considera que es una especie morfológicamente variable debido a su amplia distribución (occidente y sur de México hasta América Central). Dentro de las modificaciones propuestas por Hunt (2006, 2012), se encuentra la inclusión de *M. compressa*, la cual había sido excluida por distintos autores (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Lüthy, 1995). Este cambio taxonómico no es explicado por el autor, si bien Butterworth y Wallace (2004) no incluyeron a *M. compressa* en su análisis, Bárcenas *et al.* (2011) encontraron que *M. compressa* forma un clado con *M. magnimamma*, por lo que la inclusión de *M. compressa* debe ser considerada dudosa, ya que la especie hermana (*M. magnimamma*) se clasifica dentro de la serie *Mammillaria*.

Cuadro 2. Especies incluidas en la serie *Polyedrae* por diferentes autores. (Los sinónimos están entre paréntesis).

Schumann (1898)	Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991)	Reppenhagen (1992)	Lüthy, 1995	Hunt (2006, 2012*)
<i>Mammillaria karwinskiana</i>	<i>Mammillaria atroflorens</i>	Grupo <i>Mammillaria polyedra</i>	<i>Mammillaria carnea</i>	<i>Mammillaria carnea</i>
<i>M. mutabilis</i>	<i>M. beiseilii</i>	<i>Mammillaria carnea</i>	<i>M. karwinskiana</i>	<i>M. compressa</i>
<i>M. polyedra</i>	<i>M. casoi</i>	<i>M. multiseta</i>	(<i>M. confusa</i>)	* <i>M. karwinskiana</i>
<i>M. praelii</i>	<i>M. carnea</i>	<i>M. polyedra</i>	(<i>M. nejapensis</i>)	(<i>M. beiseilii</i>)
<i>M. pyrocephala</i>	<i>M. collinsii</i>	Grupo <i>Mammillaria mystax</i>	<i>M. knippelliana</i>	(<i>M. collinsii</i>)
	<i>M. eichlamii</i>	<i>Mammillaria casoi</i>	<i>M. mystax</i>	(<i>M. confusa</i>)
	<i>M. huajuapensis</i>	(<i>M. mixtecensis</i>)	(<i>M. atroflorens</i>)	(<i>M. conzatii</i>)
	<i>M. karwinskiana</i>	<i>M. erythra</i>	(<i>M. casoi</i>)	(<i>M. eichlamii</i>)
	<i>M. confusa</i>	<i>M. huajuapensis</i>	(<i>M. erythra</i>)	(<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>beiseilii</i>)
	<i>M. conzatii</i>	<i>M. mystax</i>	(<i>M. huajuapensis</i>)	(<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>nejapensis</i>)
	<i>M. pyrocephala</i>	(<i>M. atroflorens</i>)	(<i>M. sartorii</i>)	(<i>M. nagliana</i>)
	<i>M. knippelliana</i>	<i>M. sartorii</i>	(<i>M. varieaculeata</i>)	(<i>M. tropica</i>)
	<i>M. mixtecensis</i>	(<i>M. tenampensis</i>)	<i>M. polyedra</i>	(<i>M. voburnensis</i> subsp. <i>collinsii</i>)
	<i>M. multiseta</i>	<i>M. varieaculeata</i>	<i>M. voburnensis</i>	(<i>M. voburnensis</i> subsp. <i>eichlamii</i>)
	<i>M. mystax</i>	Grupo <i>Mammillaria karwinskiana</i>	(<i>M. beiseilii</i>)	(<i>M. voburnensis</i> var. <i>quetzalcoatli</i>)
	<i>M. nejapensis</i>	<i>Mammillaria beiseilii</i>	(<i>M. collinsii</i>)	(<i>M. voburnensis</i> subsp. <i>voburnensis</i>)
	<i>M. neomystax</i>	<i>M. confusa</i>	(<i>M. eichlamii</i>)	<i>M. knippelliana</i>
	<i>M. orcutii</i>	(<i>M. conzatii</i>)		<i>M. mystax</i>
	<i>M. polyedra</i>	<i>M. karwinskiana</i>		(<i>M. casoi</i>)
	<i>M. sartorii</i>	<i>M. praelii</i>		(<i>M. erythra</i>)
	<i>M. tenampensis</i>	<i>M. knippelliana</i>		(<i>M. huajuapensis</i>)
	<i>M. varieaculeata</i>	<i>M. nagliana</i>		(<i>M. mixtecensis</i>)
	<i>M. voburnensis</i>	<i>M. nejapensis</i>		<i>M. polyedra</i>
		<i>M. tropica</i>		(<i>M. multiseta</i>)
		<i>M. voburnensis</i> var. <i>voburnensis</i>		<i>M. sartorii</i>
		<i>M. voburnensis</i> var. <i>collinsii</i>		(<i>M. tenampensis</i>)
		(<i>M. collinsii</i>)		<i>M. varieaculeata</i>
		<i>M. voburnensis</i> var. <i>eichlamii</i>		
		(<i>M. eichlamii</i>)		
		<i>M. voburnensis</i> var. <i>quetzalcoatli</i>		

2.6 La delimitación de especies en Cactaceae

El número de estudios sobre delimitación de especies en Cactaceae ha aumentado en las últimas décadas. La morfología es el principal conjunto de atributos a partir del cual se han realizado estudios de delimitación de especies y los datos obtenidos son analizados con métodos de estadística multivariada. Estos métodos han servido para evaluar tanto la variación intraespecífica (Chamberland, 1997; Baker y Johnson, 2000), como la variación interespecífica (Arroyo-Cosultchi *et al.*, 2010; Sánchez *et al.*, 2013).

Otra alternativa para la determinación de especies es el empleo del código de barras genético, el cual consiste en una secuencia corta de DNA (CBOL, 2013). Entre los organismos considerados como buenos candidatos para ser integrados en este proyecto se encuentran las cactáceas, puesto que con ello se puede facilitar la identificación de aquellas especies extraídas ilegalmente, como consecuencia de la demanda en el mercado internacional (Yesson *et al.*, 2011). Sin embargo el número de trabajos empleando marcadores moleculares es reducido. Korotkova *et al.* (2011) utilizaron siete marcadores del cloroplasto (dos intrones, tres espaciadores intergénicos y dos regiones codificantes) para delimitar las especies del género *Rhipsalis* reconociendo 52 de las 53 especies propuestas. Helsen *et al.* (2009) utilizaron dos marcadores de cloroplasto (*trnT-trnL* y *PhyC*) y uno de núcleo (ITS1) para delimitar a las especies de *Opuntia* que habitan en las islas Galápagos. Baker y Butterworth (2013) emplearon 10 secuencias de microsatélites para delimitar a las dos especies y tres subespecies de *Coryphantha* sección *Robustispina*. Cabe recalcar que en los dos últimos trabajos combinaron caracteres moleculares con morfológicos y sus resultados fueron variables. Helsen *et al.* (2009) encontraron que con los caracteres morfológicos es posible diferenciar entre las especies de *Opuntia* en comparación con las secuencias de DNA, ya que con estas últimas identificaron menos del 80% de las especies estudiadas. Baker y Butterworth (2013) reportan que 100% de los individuos delimitados a partir de la morfología fueron identificados positivamente con los microsatélites.

En el caso particular de *Mammillaria*, son escasos los estudios realizados para delimitar las especies. El problema sobre el reconocimiento de especies se ha documentado parcialmente, ya que lejos de resolver dudas sobre los límites de las mismas incrementa las preguntas sobre si se deben reconocer como entidades distintas o como una sola. Fitz-Maurice y Fitz-Maurice (2009) hacen una crítica sobre los razonamientos para reconocer a

las especies de la serie *Stylothelae*, con énfasis en el grupo *M. crinita*, ya que aún prevalecen argumentos sin evaluación para aceptar o rechazar taxones. Por ejemplo ellos reconocen a *M. tezontle* como una especie; sin embargo, otros autores afirman que es parte de la variación de *M. crinita* por encontrarse dentro de su área de distribución. En contraparte, Fitz-Maurice y Fitz-Maurice (2009) han llegado a la conclusión de que los caracteres de *M. nana* no la distinguen de *M. crinita*, aunque son reconocidas como especies distintas por Hunt (2006). Roberts (2011) hizo una recopilación en la literatura sobre los atributos mediante los cuales diversos autores identificaban a *M. lasiacantha*, haciendo notar que algunos de los caracteres diagnósticos como la distinción entre espinas radiales y centrales han sido malinterpretados, ya que en las descripciones se asume que *M. lasiacantha* carece de espinas centrales mientras que éste autor señala que si existen y que se han confundido con las espinas radiales. Por esta razón, se plantea una nueva pregunta ¿este atributo es consistente entre las poblaciones de *M. lasiacantha*? Son pocos los estudios que ofrecen argumentos contundentes para reconocer las especies de éste género, uno de ellos es el realizado por Hunt (1976), quien hizo una comparación entre los caracteres morfológicos (cuantitativos y cualitativos) de *M. rhodantha* y otras especies afines como *M. discolor* y *M. aureiceps*, que permitan distinguirlas entre ellas. Novoa (2008) realizó un estudio sobre delimitación de especies para un grupo de la serie *Supertextae*, usando caracteres morfológicos (cualitativos y cuantitativos). Los análisis permitieron discernir entre *Mammillaria supertexta* y *M. dixanthocentron*, pero también encontró suficiente evidencia para reconocer a *M. flavicentra* y *M. lanata*. En términos amplios y bajo el escenario antes descrito existen diferentes propuestas sobre el número de especies que conforman *Mammillaria*, algunos autores como Reppenhagen (1992) reconoce 290, mientras que Hunt (2006) sólo 163. Es sorprendente que siendo el género más grande de la familia, aun son insuficientes los estudios sobre el reconocimiento de sus especies.

Ante la ausencia de estudios sobre la delimitación de especies en la serie *Polyedrae* y considerando que tres taxones (*M. karwinskiana* subsp. *beiseli*, *Mammillaria knippeliana* y *M. varieaculeata*) se encuentran listadas en alguna categoría de riesgo dentro de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Por otra parte se trata de un grupo nativo y con muchas especies endémicas de México. Con base en los antecedentes presentados, se plantean las siguientes preguntas: ¿cuántas especies integran a la serie *Polyedrae*? ¿la serie *Polyedrae* es un grupo monofilético? y ¿cuál es el patrón de distribución para las especies que integran a la serie *Polyedrae*?

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Realizar un estudio sistemático de la serie *Polyedrae* que permita reconocer las especies que lo integran.

Objetivos particulares

- Explorar y evaluar con base en evidencias morfológicas y moleculares, la circunscripción de las especies que integran a la serie *Polyedrae*.
- Poner a prueba la monofilia de la serie *Polyedrae*.
- Conocer y describir la distribución geográfica de las especies que integran a la serie *Polyedrae*.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Revisión de literatura y herbario

Se recopiló información sobre el género *Mammillaria* y la serie *Polyedrae* en la literatura especializada (Hunt, 1987; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Reppenhagen, 1992, Lüthy, 1995; Guzmán *et al.*, 2003, Hunt, 2006; Guzmán, 2009), con el fin de obtener los nombres de las especies que han sido incluidos para la serie (sinonimia) y con ello hacer una lista inicial de especies, así como los caracteres que han permitido su reconocimiento por parte de los autores citados. Por otro lado esta búsqueda permitió ubicar los ejemplares, los tipos y las localidades geográficas de recolección. Los herbarios consultados fueron BIGU, ENCB, FCME, HUMO, IBUG, IZTA, MEXU, MHES, SERO, OAX, XAL y XALU (acrónimos de acuerdo con la nomenclatura de Holmgren *et al.*, 1990), y se complementó con la información obtenida del Global Biodiversity Information Facility y CONABIO, las cuales reúnen información de herbarios extranjeros (K y MO). Estos datos permitieron planear el trabajo de campo y de manera adicional se obtuvieron datos de fenología.

4.2 Obtención de muestras

Los ejemplares utilizados provienen de México (Morelos, Oaxaca, Puebla y Veracruz), Guatemala y El Salvador. Además, se complementó con material resguardado en la colección de cactáceas del Jardín Botánico, IBUNAM, provenientes de Chiapas, Oaxaca y Nayarit (Cuadro 3). Entre cinco y diez ejemplares adultos se fotografiaron por localidad, junto a una escala métrica. Los ejemplares seleccionados fueron aquellos que presentaron estructuras reproductivas o restos de ellas que corroboraran que fueran individuos adultos. Se recolectaron tres individuos por localidad y finalmente se tomaron coordenadas geográficas y altitud mediante un geoposicionador global marca Garmin (GPS por sus siglas en inglés). Los ejemplares colectados se resguardaron en la colección de cactáceas del Jardín Botánico, IBUNAM con el fin de obtener flores y frutos. Enseguida se herborizó un individuo por localidad y el juego de ejemplares se depositó en MEXU y sus duplicados enviados a otros herbarios.

Cuadro 3. Relación de localidades visitadas para la obtención de ejemplares, así como número de ejemplares medidos por localidad.

No.	Localidad	Colector	Nombre de la especie identificada <i>a priori</i>	Individuos por localidad
1	Ixtaltepec, OAX.	David Aquino (DA38)	<i>Mammillaria polyedra</i>	10
2	Nochixtlán, OAX.	David Aquino (DA179)	<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>karwinskiana</i>	10
3	Tecamachalco, PUE.	David Aquino (DA222)	<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>karwinskiana</i>	10
4	Tehuacán, PUE.	David Aquino (DA225)	<i>M. mystax</i>	10
5	Suchixtlahuca, OAX. (Localidad tipo)	David Aquino (DA231)	<i>M. mixtecensis</i>	10
6	Tejupan, OAX (Localidad tipo)	David Aquino (DA233)	<i>M. casoi</i>	10
7	Río del Oro, OAX.	David Aquino (DA234)	<i>M. polyedra</i>	10
8	Miltepec, OAX.	David Aquino (DA238)	<i>M. huajuapensis</i>	10
9	El Papayo, PUE.	David Aquino (DA239)	<i>M. polyedra</i>	10
10	Ajalpan, PUE.	David Aquino (DA241)	<i>M. carnea</i>	10
11	Jalcomulco, VER.	David Aquino (DA245)	<i>M. sartorii</i>	5
12	Santa Ma. Tatetla, VER	David Aquino (DA246)	<i>M. sartorii</i>	5
13	Villa de Mitla, OAX.	David Aquino (DA247)	<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>karwinskiana</i>	10
14	San Cristóbal, OAX	David Aquino (DA250)	<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>nejapensis</i>	10
15	Santa Ana Tavela, OAX	David Aquino (DA252)	<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>nejapensis</i>	10
16	San José, OAX	David Aquino (DA253)	<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>nejapensis</i>	10
17	Acultzingo, VER	David Aquino (DA255)	<i>M. erythra</i>	10
18	Chila, PUE	David Aquino (DA260)	<i>M. huajuapensis</i>	10
19	Cuernavaca MOR.	David Aquino (DA261)	<i>M. knippeliana</i>	10
20	Coxcatlán, PUE	Salvador Arias (SA904)	<i>M. carnea</i>	10
21	La Ventosa, OAX	Salvador Arias (SA1040)	<i>M. voburnensis</i> subsp. <i>collinsii</i>	5
22	Tepanco, PUE	Salvador Arias (SA1056)	<i>M. carnea</i>	10
23	Jiquipilas, CHIA	Salvador Arias (SA1612)	<i>M. voburnensis</i> subsp. <i>eichlamii</i>	5
24	La Trinitaria, CHIA.	Salvador Arias (SA1650)	<i>M. voburnensis</i> subsp. <i>eichlamii</i>	5
25	Islas Marías, NAY	Juan José Blancas (JJB128)	<i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>beiselii</i>	5
26	Metapan, EL SALVADOR	Gabriel Ceren (GC2591)	<i>M. voburnensis</i> subsp. <i>voburnensis</i>	10
27	Cerro Gordo VER.	Jerónimo Reyes (JE3009)	<i>M. sartorii</i>	5
28	Tlaxiaco, OAX	Jerónimo Reyes (JE5530)	<i>M. aff. mystax</i>	5
29	Calipan, PUE.	Ulises Guzmán (UG1091)	<i>M. varieaculeata</i>	10
30	Río Negro, GUATEMALA	Mario Velíz (MV19786)	<i>M. voburnensis</i> subsp. <i>eichlamii</i>	5

4.3 Delimitación de especies con caracteres morfológicos

4.3.1 Caracteres: Se evaluaron 19 caracteres cuantitativos a 255 individuos colectados en 30 localidades (Cuadro 3), de los que nueve caracteres corresponden a estructuras vegetativas (tallo, aréolas, espinas) y diez a reproductivas (flor y fruto). Las medidas se realizaron directamente sobre el ejemplar o por medio de las fotografías tomadas a las plantas, para ello se utilizó el analizador de imágenes AxioVision Rel 4.8 (Carl Zeiss Imaging Solution, 2009). Otro conjunto de datos como el número de espinas radiales y centrales se hicieron por conteo directo. En el caso particular de *Mammillaria voburnensis* subsp. *voburnensis*, los valores de los caracteres reproductivos se tomaron de Reppenhagen (1992). Las mediciones y conteos se ordenaron en una hoja de Excel.

4.3.2 Análisis Canónico Discriminante y Clasificadorio: El Análisis Canónico Discriminante (ACD) es una prueba que permite saber si es posible separar un conjunto de n individuos en dos o más grupos, dado un conjunto de p variables discriminantes (mediciones o conteos) comparando y describiendo las medias de las p variables, en tanto que el Análisis Canónico Clasificadorio (ACC) define el grupo al que cada individuo pertenece en una tabla $n \times (p+1)$ en que cada caso figura con un perfil y una asignación a un grupo (Manly, 1986). A partir de la hoja de datos en Excel, el conjunto de mediciones se analizaron en el programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc., 2010).

4.4 Delimitación de especies con caracteres moleculares

4.4.1 Taxones: Se seleccionaron 59 muestras de las cuales 42 corresponden a las especies de la serie *Polyedrae*. Se obtuvo una muestra de tejido del tallo de un individuo por cada localidad muestreada, esto con el fin de cubrir la mayor parte de la variación morfológica a lo largo del área de distribución. En el caso de *Mammillaria knippeliana*, *M. karwinskiana* subsp. *beiselii*, *M. voburnensis* subsp. *voburnensis*, *M. voburnensis* subsp. *collinsii* y *M. varieaculeata*, sólo se trabajó con ejemplares de una sola localidad, se añadieron tres muestras del tallo de tres individuos diferentes para tener representatividad en el análisis.

4.4.2 Selección de las secuencias: Se eligieron cuatro secuencias de nucleótidos del cloroplasto. La región codificante del gen *matK* que se encarga de sintetizar la proteína madurasa-K que interviene en algunas etapas de la germinación, presenta altas tasas de

sustitución tanto a nivel de nucleótidos como de aminoácidos (Barthet y Hilu, 2007). CBOL Plant Working Group (2009) propuso que la región codificante puede ser empleada para identificar especies, ya que presenta altos niveles de discriminación entre las especies de angiospermas principalmente, además de ser una secuencia fácil de amplificar y secuenciar. El segundo marcador empleado es el espaciador intergénico *psbA-trnH*, el cual es un locus de rápida evolución y ofrece la ventaja de aumentar la resolución de secuencias cuya tasa de evolución va de moderada a baja (p. ej. *matK*), puesto que a mayores tasas de divergencia de secuencias, se pueden discriminar entre especies muy afines (Kress y Erickson, 2007; CBOL Plant Working Group, 2009). El tercer marcador usado es el espaciador intergénico *trnQ-rps16*, el cual separa a *trnQ*, un promotor de cloroplasto que no es fotosintético (Baena-González *et al.* 2001) y *rps16* encargado de sintetizar la proteína ribosomal S16 (Ueda *et al.*, 2008). Dong *et al.* (2012) registra que es un marcador muy variable con buena resolución para identificar especies, por otro lado esta secuencia ha sido usada en el reconocimiento de especies en la familia Cactaceae (Korotkova *et al.*, 2011). En tanto que *rpl16* está formado por dos exones separados por un intrón y se encuentra en la mayoría de las plantas terrestres, excepto en las familias Geraniaceae, Goodeniaceae y Plumbaginaceae (Campagna y Downie, 1998). La sección amplificada corresponde al intrón, ya que se ha registrado para la familia Cactaceae y su nivel de resolución puede ser tanto a nivel infraespecífico (Korotkova *et al.*, 2011) como supraespecífico (Butterworth y Wallace, 2004).

4.4.3 Aislamiento del DNA genómico: El tejido se deshidrató con gel de sílice en dos cambios cada 24 horas hasta retirar la mayor cantidad de agua, al terminar el proceso las muestras se guardaron en refrigeración a -5 °C. Enseguida el tejido deshidratado se colocó en un ultracongelador a -70 °C durante 24 horas. Las muestras congeladas se molieron en una trituradora Tissue LyserLT marca Qiagen a 50 oscilaciones por 4 minutos. La extracción de DNA se hizo mediante un kit de extracción DNeasy (Qiagen, California) siguiendo el protocolo adjunto y las alícuotas de DNA total se almacenaron a -20 °C.

4.4.4 Amplificación y secuenciación: Las regiones fueron amplificadas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Cada región se amplificaba a partir de 25 µl la cual se preparaba con 19.125 µL de agua esterilizada, 2.5 µL de buffer 10×, 0.5 µL de dNTPs Invitrogen [0.1 mM]; 1 µL BSA al 0.4%, 0.75 µL de MgCl₂ [0.75 mM], 0.3-0.5 de cada primer [0.06-0.10 µM], 0.125 µL de Taq Platinum

Invitrogen [0.625 U/ μ L] y de 0.5–1.0 μ L de DNA total, la cantidad varía según las dificultades encontradas durante a amplificación. La amplificación se realizó en un termociclador ESCO, modelo MX-BCL-1. Los programas para cada gen se detallan en el Cuadro 4. Los productos del PCR finalmente fueron secuenciados con el método Sanger en Genome Institute de la Universidad de Washington (Estados Unidos de América).

Cuadro 4. Programas para la amplificación de los cuatro marcadores empleados en la delimitación de especies y la filogenia de la serie *Polyedrae*.

Marcador molecular	Primers/ Referencia	Programa del termociclador	Número de ciclos
<i>psbA-trnH</i>	CA <i>psbA</i> F: CCGTGCTAACCTTGGTATGG CA <i>trnH</i> R: CCGCGAATGGTGGATTCACAAT (Vázquez-Sánchez <i>et al.</i> 2013)	94 °C 2 minutos	29
		94 °C 30 segundos	
		52 °C 30 segundos	
		72 °C 1 minuto	
<i>trnQ-rps16</i>	<i>trnQ</i> : CCAAGTGGTAAGGCGTTCGGG <i>rps16</i> : GTTGCTTTCTACCACATCGTTT (Korotkova <i>et al.</i> 2011)	72 °C 7 minutos	30-35
		95 °C 2 minutos	
		95 °C 30 segundos	
		55 °C 1 minuto	
<i>rpl16</i>	<i>rpl16</i> F: GCTATGCTTAGTGTGACTCGTT <i>rpl16</i> R: CTTCTATTTGTCTAGGCGTGATCC (Vázquez-Sánchez <i>et al.</i> 2013)	72 °C 1 minuto	28-30
		94 C 5 minutos	
		55 °C 50 segundos	
		72 °C 2 minutos	
<i>matK</i>	<i>matK</i> _3F_kim: CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG <i>matK</i> _1R_kim: ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGTTTC (Vázquez-Sánchez <i>et al.</i> 2013)	72 °C 4 minutos	30
		94 °C 2 minutos	
		94 °C 30 segundos	
		48°C 40 segundos	
		72 °C 40 segundos	
		72 °C 7 minutos	

El marcador más difícil de amplificar fue *rpl16*. Se hicieron modificaciones en la cantidad de DNA genómico, disminuyendo la cantidad de 0.75 μ l a 0.50 μ l, también se modificó el tiempo del programa del termociclador de 28 a 30 ciclos. Con el espaciador *trnQ-rps16* sólo tres muestras presentaron dificultades en el momento de la amplificación: *Mammillaria lasiacantha* *Ortegocactus macdougallii*, *Pelecyphora strobiliformis* y *Neolloydia conoidea*. En el caso de la muestra de *N. conoidea* se repitió tres veces la amplificación y en una ocasión se pudo obtener una secuencia en la cual la cadena complementaria *rps16*, por lo que se optó por usar únicamente esta cadena. En las tres especies restantes se observaron bandas débiles en el gel de agarosa por lo que se modificó el procedimiento, en esta ocasión se tomó 0.75 μ l del producto del PCR obtenido en sustitución del DNA total,

se utilizó la misma cantidad de reactivos y se reamplificó, modificando el tiempo del termociclador pasando de 30 ciclos a 17. En las demás secuencias del espaciador *trnQ-rps16* no hubo dificultades durante la amplificación, de igual forma que en *psbA-trnH* y *matK*.

Las secuencias obtenidas fueron ensambladas por medio del programa Sequencher 4.8 (Gene Codes Corp., 2007). La calidad de las secuencias fue variable siendo *psbA-trnH* y *matK* las que mejor calidad presentaron (>90%). En el caso de *trnQ-rps16* las cadenas fueron de buena calidad (>90%), excepto para la secuencia de *Neolloydia conoidea* en donde sólo la cadena complementaria *rps16* pudo amplificarse y la calidad fue del 84.7%, en tanto que las secuencias correspondientes a *rpl16* registraron un 85%.

Para realizar el alineamiento en Sequencher 4.8 se creó un archivo donde se agregaban secuencias de consenso, los cuales se seleccionaron todos al mismo tiempo y con la función "Assemble automatically" es posible realizar un alineamiento preliminar. El archivo se exportó en formato FASTA y se hizo una revisión manual con Mesquite ver. 2.75 (Maddison y Maddison, 2002). Enseguida se cortaron las colas de las secuencias las cuales no se pudieron alinear.

4.4.5 Análisis molecular: Para investigar si los individuos de cada especie hipotética formaban grupos monofiléticos, se reconstruyó un árbol con cuatro marcadores de cloroplasto. Con el fin de obtener el número de caracteres informativos para cada marcador de forma individual y concatenando las matrices, para saber cuál es la combinación que tiene mayor poder discriminante, se utilizó PAUP* 4.0b10 para Windows 32 bits (Swofford, 2001).

Se eligió el modelo de sustitución molecular utilizando jModelTest 2 el cual realiza la selección del modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajuste a la matriz (Darriba *et al.*, 2012). Para las cuatro matrices correspondientes a los marcadores secuenciados se obtuvo su respectivo modelo utilizando el Criterio de Información de Akaike. Los modelos encontrados y que mejor se ajustaron para cada marcador son: *matK* (TVM+I), *psbA-trnH* (TPM1uf+I), *rpl16* (TIM3+I+G) y *trnQ-rps16* (F81+G).

Para el reconocimiento de especies con marcadores moleculares se utilizó un análisis de inferencia Bayesiana. Este método permite a partir de la aplicación de un modelo de evolución y obtener una hipótesis reflejada en un árbol, cuyos valores de probabilidad posterior son el resultado de la aplicación de un algoritmo denominado Cadenas Markovianas de MonteCarlo, por lo que es útil cuando el número de hipótesis alternativas es muy grande (Holder y Lewis, 2003). El análisis bayesiano se efectuó con el programa MrBayes ver. 3.2.1 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Después de haber ajustado los modelos a la matriz, se aplicaron 2 millones de generaciones (ngen= 2 000 000), con cuatro cadenas markovianas (nchains=4), haciendo el muestreo de árboles cada 1000 generaciones (samplefreq=1000).

Se usó el programa Tracer v. 1.5 (Rambaut, 2013) para calcular el número de árboles que deben ser descartados, se encontró que con la omisión de los primeros 5000 árboles, las cadenas llegaban a su punto de equilibrio, por lo que en MrBayes se eliminó el 5% de los árboles (sump relburnin = yes burninfrac = 0.05), el resto de los mismos se sumaron en un árbol de mayoría (sumt relburnin = yes burninfrac = 0.05), el árbol resultante se editó en TreeGraph 2 (Stöver y Müller, 2010).

4.5 Análisis filogenético con caracteres morfológicos

4.5.1 Taxones: Se emplearon como terminales a las especies que fueron reconocidas en la sección anterior. Para poner a prueba la monofilia de la serie *Polyedrae*, se incluyó como grupo externo especies de *Mammillaria* para representar a los miembros de las tres secciones en el que se ha dividido el género (*Hydrochilus*, *Subhydrochilus* y *Mammillaria*), así como especies correspondientes a *Coryphantha*, *Escobaria*, *Neolloydia*, *Ortegocactus* y *Pelecyphora*. Todos estos géneros conforman el clado “Mammilloide” sensu Butterworth *et al.* (2002).

4.5.2 Caracteres morfológicos: Los caracteres cuantitativos se sometieron a una prueba de comparación de medias, la cual permite la comparación de los valores de una variable continua de tal forma que se puedan resumir en dos o más categorías (Mendenhall *et al.*, 2010) y de esta forma codificar potenciales estados de carácter. En el caso de los caracteres cualitativos estos se obtuvieron a partir de observación directa de los ejemplares vivos y se complementó con material de herbario. En caso de no contar con alguna estructura, estos se obtuvieron a partir de la literatura. Cada carácter y sus estados fueron

documentados con fotografías. La descripción de las estructuras vegetativas y reproductivas de *Mammillaria mammillaris* y *M. columbiana* se registraron a partir de Reppenhagen (1992).

Para la observación de los caracteres de las semillas se siguió el método empleado por Sánchez (2010), con algunas modificaciones para eliminar restos de mucilago. Éste consistió en lavar las semillas en una solución de 100 ml de agua a la que se adicionaron 10 gotas de detergente biológico Tween, calentadas a 70 °C aproximadamente y mantenidas en agitación durante 10 minutos. Al terminar se colocaron en tubos Axygen de 2 ml llenado con agua destilada y se limpiando con ultrasonido (limpiador ultrasónico Branson 200). El proceso se repitió hasta retirar la mayor cantidad de mucilago adherido y las muestras secas se guardaron en tubos de plástico. Se montaron un total de seis semillas, tres en posición lateral y tres mostrando la región micropilar en un portamuestras de aluminio. Para sujetar las semillas se colocó una cinta de carbón de doble cara y se recubrió con oro a un grosor de 2 $\mu\text{Å}$ con un evaporador Quorum modelo Q150R ES. Las observaciones se realizaron en el Microscopio Electrónico de Barrido Hitachi SU1510 en el Instituto de Biología de la UNAM. Los datos correspondientes a las semillas de *Escobaria missouriensis*, *Ortegocactus macdougallii* y *Pelecyphora strobilliformis* se obtuvieron de la obra de Barthlott y Hunt (2000).

4.5.3 Matriz de datos: La matriz se editó en Mesquite ver 2.75 (Maddison y Maddison, 2002), la cual consta de 30 terminales y 35 caracteres, de los cuales cinco son cuantitativos, 29 cualitativos y uno ecológico. El listado completo de los caracteres así como su descripción se encuentra en el Apéndice 9.3.

4.5.4 Análisis cladístico: Se realizó un análisis de parsimonia con el programa PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2001). Los caracteres tuvieron el mismo peso, fueron desordenados y considerados como parsimoniosamente informativos, usando ACCTRAN como criterio de optimización de caracteres, se retuvieron en la memoria 20 000 árboles (set maxtrees=20000 increase=no); se designó como grupo externo a las especies *Coryphantha calipensis*, *Escobaria missouriensis*, *Neolloydia conoidea*, *Ortegocactus macdougallii* y *Pelecyphora strobilliformis*, se hizo un búsqueda heurística con 2000 réplicas (hs /addseq=rand nreps=2000), de los árboles más parsimoniosos y se obtuvo el árbol de consenso estricto (cont). Se realizaron las pruebas de soporte de ramas Bootstrap

aplicando 2000 réplicas (bo nreps=2000 /addseq=rand) y una prueba de Jackknife con 2000 réplicas (jac nreps=2000), finalmente los valores encontrados se anotaron sobre el árbol de consenso estricto. Los arboles resultantes se editaron en TreeGraph 2 (Stöver y Müller, 2010).

4.6 Análisis filogenético con caracteres moleculares

4.6.1 Secuencias: Se utilizaron las secuencias de las especies reconocidas de la serie *Polyedrae* en la sección anterior, más el grupo hermano y externo. Se emplearon cuatro secuencias de cloroplasto: *psbA-trnH* y *rpl16* las cuales se utilizaron en la filogenia del género *Mammillaria* (Butterworth y Wallace, 2004), de manera complementaria se utilizaron *matK* y *trnQ-rps16* que también tienen resolución en categorías supraespecíficas (Korotkova *et al.*, 2010, Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013).

4.6.2 Matriz de datos: Se empleó la matriz resultante de la delimitación de especies en la cual solo se incluyeron los taxones delimitados y los integrantes del grupo externo. La matriz consta de 30 terminales con 2727 pares de bases, se editó en Mesquite ver 2.75 (Maddison y Maddison, 2002), con el fin de verificar que las bases estuvieran correctamente alineadas.

4.6.3 Análisis cladístico y bayesiano: El análisis se realizó con el programa PAUP 4.0b10 para Windows 32 bits (Swofford, 2001). Los caracteres tuvieron el mismo peso, se codificaron como desordenados y parsimoniosamente informativos, usando ACCTRAN como criterio de optimización de caracteres. Para ser congruentes con los pasos realizados para la filogenia con caracteres morfológicos, se aplicaron los mismos pasos con una búsqueda heurística de 2000 réplicas, de igual forma para las evaluaciones de soporte (Bootstrap y Jackknife) se aplicaron 2000 búsquedas para cada prueba. De forma adicional se utilizó Inferencia Bayesiana para contrastar los resultados derivados del análisis de parsimonia. Para la partición correspondiente a cada marcador se obtuvo el modelo que mejor se ajusta a los datos por medio del programa jModelTest 2 (Darriba *et al.* 2012), los modelos encontrados fueron para *matK* (TVM+I), *psbA-trnH* (TPM1uf+I), *rpl16* (TIM3+I+G) y *trnQ-rps16* (F81+G). Esta prueba se efectuó con el programa MrBayes ver. 3.2.1 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Se aplicaron las instrucciones detalladas en la sección de delimitación de especies con 2 millones de generaciones y cuatro cadenas markovianas.

Los árboles resultantes del análisis con parsimonia e Inferencia Bayesiana se editaron en TreeGraph 2 (Stöver y Müller, 2010).

4.7 Distribución geográfica

Se obtuvieron 264 registros de los cuales 234 corresponden a ejemplares de herbario y 30 a colectas realizadas durante el presente estudio, éstos se complementaron con 18 registros de las bases de datos de CONABIO. Se consultaron las bases de datos del Global Biodiversity Information Facility; la información contenida se cotejó con la obtenida de las bases de datos de CONABIO y los herbarios consultados, encontrando que los registros son similares por lo que se descartó la información. A partir de los datos obtenidos se construyó una base de datos en Access, la cual se diseñó con 54 campos, entre los cuales destacan nombre científico, localidad (país, estado o departamento, municipio, sitio), coordenadas, altitud, entre otros. El tipo de vegetación están nombradas de acuerdo a Rzedowski (1991). En caso de que el ejemplar careciera de coordenadas geográficas se georreferenció usando Google Earth (Google Inc., 2011).

Se empleó el programa ArcMap GIS Ver. 10 (Environmental Scientific Research Institute, 2010), empleando los registros de la base de datos para elaborar los mapas correspondientes para mostrar la distribución de las especies ya delimitadas y también en donde se representa la distribución general de la serie *Polyedrae* con respecto a su grupo hermano definido por la filogenia. En estos casos se empleó la capa de orografía de América del Norte la cual viene precargada en el software empleado, esto con el fin de conocer los límites de distribución natural de los taxones.

5. RESULTADOS

5.1 Delimitación de especies con caracteres morfológicos

El Análisis de Funciones Canónicas Discriminantes (ACD) mostró que la primera y segunda función explican 43.76 % y el 28.89% de la variación encontrada con un valor lambda de Wilks $P < 0.05$, mientras que 27.35% restante se reparte entre las funciones tres y 16. El Cuadro 5 enlista los 19 caracteres cuantitativos y sus coeficientes canónicos para las funciones una y dos. La primera función tiene los mayores coeficientes canónicos relacionados con el número y longitud de espinas radiales, así como la longitud de las flores. La segunda función tiene los mayores coeficientes canónicos para el largo y el ancho de aréola, así como la longitud de las cerdas.

Cuadro 5. Caracteres morfológicos empleados para la delimitación de especies y sus coeficientes canónicos para las funciones uno y dos. (En negritas los tres valores con mayor peso para cada función canónica).

Carácter	1	2	Carácter	1	2
Largo de la aréola	0.139197	-1.15338	Longitud de las flores	0.276202	-0.682689
Ancho de la aréola	0.121133	1.20069	Ancho de la base de los tépalos externos	-0.111114	-0.191308
Ancho de la base del tubérculo	0.0367078	-0.06441	Longitud de los tépalos externos	-0.175468	0.294237
Altura del tubérculo	-0.073711	-0.73282	Ancho de la base de los tépalos internos	0.0325926	-0.082249
Ángulo de la parte ventral del tubérculo	-0.071596	0.057109	Longitud de los tépalos internos	-0.004980	0.0239361
Longitud de las cerdas	0.206136	-0.9856	Ancho del fruto	0.0107743	-0.188493
Número de espinas radiales	0.792813	0.113095	Longitud del fruto	0.0566023	-0.359111
Longitud de las espinas radiales	0.541338	0.0803745	Largo de la semilla	0.109313	-0.110401
Número de espinas centrales	-0.212513	-0.239088	Ancho de la semilla	-0.040029	0.17384
			Largo de la región hilomicropilar	-0.008626	-0.326226

El gráfico de las dos primeras funciones muestra cuatro agrupamientos ubicados hacia la derecha del cero en la primera función canónica, los cuales se distinguen de los restantes agrupamientos por el número y longitud de las espinas radiales principalmente (Fig. 1). El grupo más grande está conformado por individuos identificados *a priori* como *Mammillaria*

mystax, *M. aff. mystax*, *M. casoi*, *M. erythra* y *M. mixtecensis* el cual es delimitado por el número de espinas radiales (4 a 7), mientras que, en la segunda función el carácter que los delimita es el ancho de la base del tubérculo (0.7-1.0 cm), la longitud de las cerdas (0.8-1.1 cm), la longitud de las flores (1.8-2.1 cm) y la longitud de los frutos (2.0-2.7 cm). Todos los individuos determinados *a priori* como subespecies de *M. voburnensis* forman el segundo grupo (Fig. 1), el cual es discriminado por el número de espinas radiales (5 a 9) en la primera función canónica, así como la altura de los tubérculos (0.65-0.80 cm) y la longitud de las flores (1.65-1.80 cm) en la segunda función. Entre esos dos grupos se encuentran los individuos de *M. huajuapensis*, los cuales son discriminados en la primera función canónica por el número de espinas radiales (6-10) y en la segunda por la longitud de las cerdas (0.2-0.6 cm), la longitud de las flores (1.4-1.7 cm) y el largo del fruto (1.8-2.0 cm). En el extremo derecho, se encuentran los individuos de *M. varieaculeata*, quienes son discriminados en la primera función canónica por el número de espinas radiales (16 a 22); la longitud de las espinas radiales (0.55-0.80 cm) y el ancho de la base del tubérculo (0.37-0.40 cm), mientras que en la segunda función la longitud de las cerdas (0.75-0.90 cm) y el ancho de la aréola (0.20-0.33 cm) los definen.

En los valores negativos de la primera función canónica se separan dos grupos, que se distinguen de los anteriores por la ausencia de espinas radiales. La segunda función canónica delimita a un grupo ubicado en el extremo superior con valores positivos: *M. carnea*, *M. karwinskiana* subsp. *beiselii* y *M. sartorii*. Los caracteres que permiten discriminar éste grupo son: la longitud de las cerdas (0.40-0.55 cm), la longitud de la flor (1.50-1.70 cm) y la longitud del fruto (1.60-1.80 cm). El último grupo incluye individuos determinados *a priori* como *M. karwinskiana* subsp. *karwinskiana*, subsp. *nejapensis*, *M. knippeliana* y *M. polyedra*. Se ubican sobre los valores negativos en el extremo inferior de la segunda función canónica y resulta el grupo más complejo. Los caracteres que discriminan al grupo son la altura de los tubérculos (0.70-1-10 cm), longitud de las cerdas (0.70-1.10 cm) y la longitud del fruto (2.00-2.50 cm).

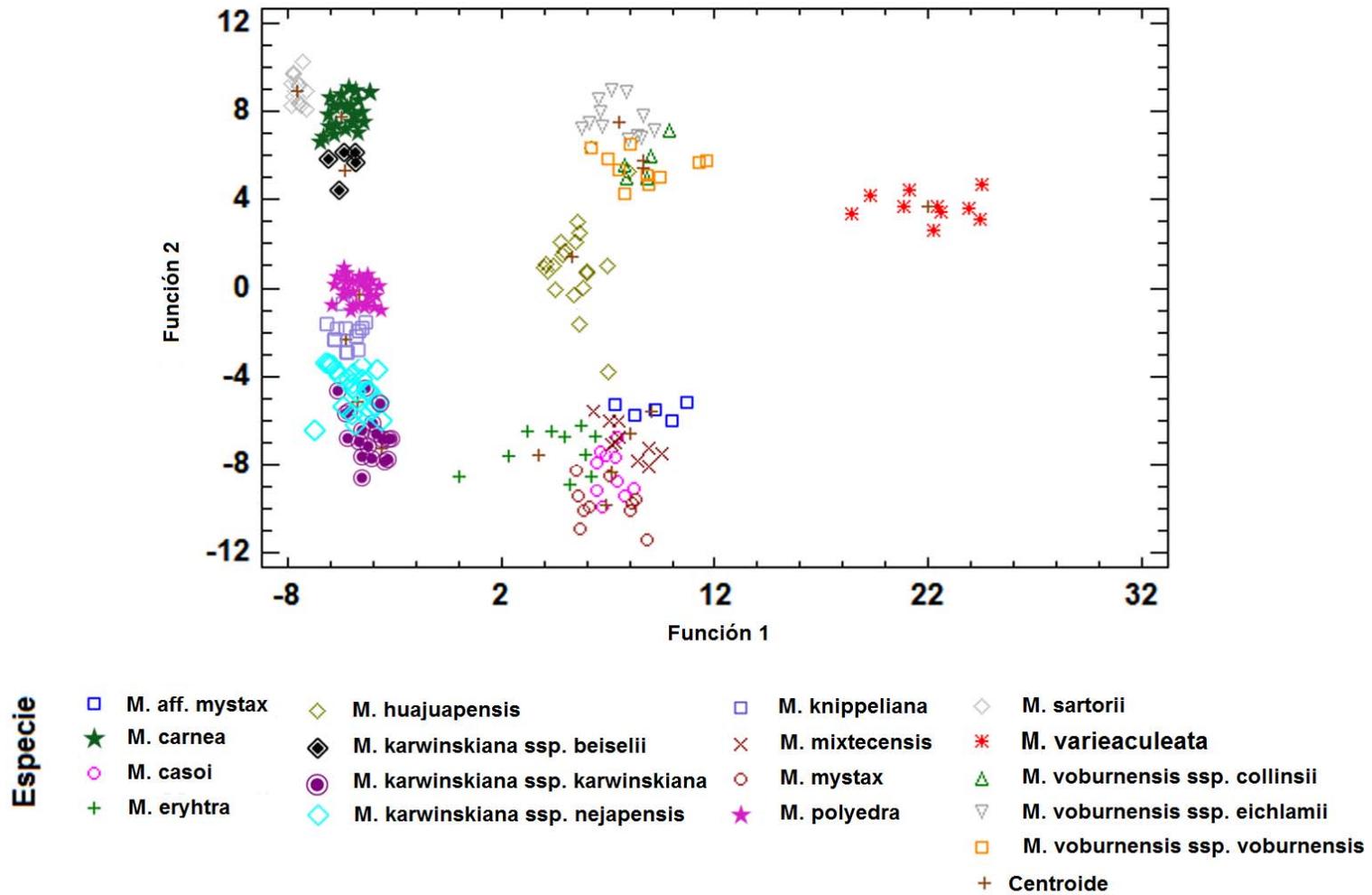


Figura 1. Análisis de las funciones canónicas discriminantes utilizando caracteres vegetativos y reproductivos, para los miembros de *Mammillaria* serie *Polyedrae*.

El análisis canónico clasificatorio (ACC) permite reconocer que los individuos determinados *a priori*, cuyo porcentaje de acierto es igual o menor al 20% son: *Mammillaria casoi*, *M. mixtecensis* y *M. aff. mystax*, mientras que *M. erythra* se recupera hasta el 40% y el resto de los individuos se clasifican dentro de *M. mystax*, dado que el conjunto de caracteres caen en su rango de variación. Por otra parte, los individuos identificados *a priori* como *M. huajuapensis* se clasifican en esa especie con un 95% y solo 5% en *M. mystax*. De igual forma el 96% de los individuos determinados *a priori* como *M. polyedra* se clasificaron en su propia especie en tanto que el 4% se agrupó en *M. knippeliana*. Sin embargo, del total de individuos determinados *a priori* como *M. knippeliana*, se recuperan en su propia especie un 90% de los individuos y el 10% restante se clasifican en *M. karwinskiana*. Por lo tanto cuatro especies son clasificadas en su propia especie 95% o más: *M. carnea*, *M. sartorii*, *M. varieaculeata*, *M. voburnensis* (incluye subsp. *voburnensis* + subsp. *collinsii* + subsp. *eichlamii*).

El ACC indica que *M. mystax* se reconoce sólo si los individuos identificados *a priori* como *M. casoi* + *M. mixtecensis* + *M. aff. mystax* son incluidos en esa especie (Cuadro 6). El caso de *M. karwinskiana* es diferente, porque sólo los individuos identificados *a priori* en las subespecies *karwinskiana* y *nejapensis*, se clasifican en esa especie, pero los individuos de *M. karwinskiana* subsp. *beiselii* se clasifican en su propia entidad, independiente de *M. karwinskiana* (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis clasificatorio para 17 taxones pertenecientes a la serie *Polyedrae*. (E = especie identificada *a priori*; t = número de individuos.1.- *M. aff mystax*, 2.- *M. carnea*, 3.- *M. casoi*, 4.- *M. erythra*, 5.- *M. huajuapensis*, 6.- *M. karwinskiana* subsp. *beisellii*, 7.- *M. karwinskiana* subsp. *karwinskiana*, 8.- *M. karwinskiana* subsp. *nejapensis*, 9.- *M. knippeliana*, 10.- *M. mixtecensis*, 11.- *M. mystax*, 12.- *M. polyedra*, 13.- *M. sartorii*, 14.- *M. varieaculeata*, 15.- *M. voburnensis* subsp. *collinsii*, 16.- *M. voburnensis* subsp. *eichlamii*, 17.- *M. voburnensis* subsp. *voburnensis*).

		Especie predicha																
E	t	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	5	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	5/ (100%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
2	30	0/ (0.0%)	30/ (100%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
3	10	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	2/ (20.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	1/ (10.0%)	7/ (70.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
4	10	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	4/ (40.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	6/ (60.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
5	20	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	19/ (95.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	1/ (5.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
6	5	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	5/ (100%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
7	30	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	20/ (66.6%)	9/ (30.1%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
8	30	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	12/ (40.0%)	18/ (60.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
9	10	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	1/ (3.3%)	0/ (0.0%)	9/ (90.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
10	10	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	1/ (10.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	2/ (20.0%)	7/ (70.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
11	10	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	10/ (100%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
12	30	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	1/ (3.4%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	29/ (96.6%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
13	15	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	15/ (100%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
14	10	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	10/ (100%)	0/(0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)
15	5	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	2/ (40.0%)	2/ (13.3%)	0/ (0.0%)
16	15	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	3/ (60.0%)	9/ (60.0%)	3/ (30.0%)
17	10	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	0/ (0.0%)	0/ (0.0%)	0/(0.0%)	4/ (26.7%)	7/ (70.0%)

5.2 Delimitación de especies con caracteres moleculares

No se observaron inversiones o inserciones en las secuencias, pero se detectaron gaps potencialmente informativos en *psbA-trnH* (posiciones 1055 a 1061) y en *trnQ-rps16* (posiciones 2609 a 2638) para cinco terminales de *Mammillaria mystax* (DA225, DA231, DA233, DA255, JE2250), cuatro de *M. huajuapensis* (DA238.1 238.2, 238.3, DA260), tres de *M. varieaculeata* (UG1901.1, 1091.2, 1091.3) y una muestra de *M. polyedra* (DA239). En *rpl16* se detectó un gap en la posición 254 para las tres muestras de *M. karwinskiana* subsp. *beiselii* (JJB128.1, JJB128.2, JJB128.3), en tanto que *matK* es el único marcador que no presentó gaps para las terminales analizadas.

Mediante el criterio de parsimonia se obtuvo el número de sitios informativos para cada matriz de forma independiente y para la matriz concatenada con los cuatro marcadores (Fig. 2). Se registró que *rpl16* fue el más variable y el de mayor longitud, seguido de los dos espaciadores intergénicos *psbA-trnH* y *trnQ-rps16*, mientras que el marcador que presentó poca variación fue *matK* (Cuadro 7). Mediante la observación del alineamiento general se observó que 18 sustituciones y un gap permitieron la delimitación de las especies, estos cambios se ubican de mayor a menor cantidad en *rpl16*, *psbA-trnH* y *trnQ-rps16*, mientras que *matK* no presentó sustituciones que permitieran la identificación de las muestras.

Cuadro 7. Resumen de la información obtenida por cada marcador.

	<i>matK</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>rpl16</i>	<i>trnQ-rps16</i>	Combinado
Posición en el alineamiento	1-787	788-1182	1183-2379	2380-2721	1-2721
Longitud en el alineamiento	787	395	1197	342	2721
Variación de la longitud sin alinear	786-787	323-376	910-1161	199-342	2404-2650
Media de la longitud sin alinear	844	411	1174	369	2604
Hotspots	0	1	3	0	4
Inversiones	0	0	0	0	0
GC%	33%	32%	29%	32%	31%

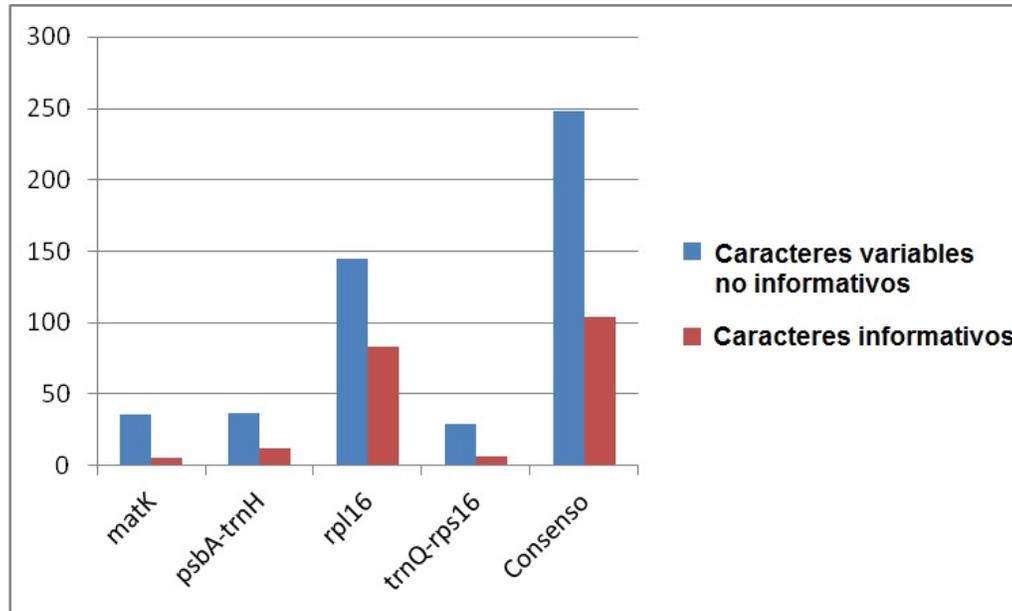


Figura 2. Comparación entre el número de caracteres variables para cada marcador utilizado en la delimitación de las especies de la serie *Polyedrae*.

La Figura 3 corresponde al árbol de mayoría obtenido por inferencia Bayesiana en el cual se recuperan como grupos monofiléticos a *Mammillaria karwinskiana* subsp. *beiselii*, *M. mystax* (incluyendo *M. aff. mystax* y *M. huajuapensis*), *M. sartorii* y *M. varieaculeata*. Para estos taxones el valor de probabilidad posterior (PP) fue superior a 0.98 para sus correspondientes clados. En el alineamiento de la matriz concatenada, *M. karwinskiana* subsp. *beiselii* requiere de un solo marcador para su identificación (*rpl16*), *M. mystax* y *M. varieaculeata* es posible delimitarlas con la combinación de *rpl16* + *psbA-trnH*, mientras que *M. sartorii* requiere de la combinación de *trnQ-rps16* + *rpl16* (Cuadro 8). Dos casos de particular interés se revelan en este análisis. Uno es *Mammillaria huajuapensis* donde las secuencias para las cuatro muestras son idénticas a *M. mystax* en *psbA-trnH* + *rpl16*, resolviéndose en el árbol en un solo clado (Fig. 3). El otro caso es la muestra *M. mystax*_DA255 (identificada *a priori*), quien es diferente a las cuatro muestras restantes de *M. mystax*, por lo que se resuelve en el árbol como una terminal independiente (Fig. 3). Su diferencia se sustenta en dos sustituciones en *psbA-trnH* más otras dos en *rpl16* (Cuadro 8). La localidad de colecta de la muestra DA255 corresponde al lugar donde fue descrita *M. erythra*.

Un segundo conjunto de especies que comprende a *Mammillaria carnea*, *M. karwinskiana*, *M. knippeliana* y *M. voburnensis* no pudieron delimitarse con los marcadores

moleculares, puesto que las terminales forman una politomía en distintos niveles del árbol de mayoría (Fig. 3). En el alineamiento de la matriz concatenada, todas las terminales de estas especies comparten una sustitución común en *rpl16* (Cuadro 8). Por otra parte, las tres terminales analizadas de *M. polyedra* se recuperan en politomías, ya que la muestra *M. polyedra*_DA239 se agrupa con *M. mystax* en el árbol de mayoría (Fig. 3), y comparten dos sustituciones en *psbA-trnH* (Cuadro 8). La muestra *M. polyedra*_DA234 forma parte de una politomía lo que no permite resolver su identidad (Fig. 3), ya que comparte con todas las terminales de *M. carnea*, *M. karwinskiana*, *M. knippeliana* y *M. voburnensis* una sustitución en *rpl16* (Cuadro 8). La muestra *M. polyedra*_DA38 se recupera en una politomía basal (Fig. 3) y presenta dos sustituciones que no comparte con otras terminales en *rpl16*.

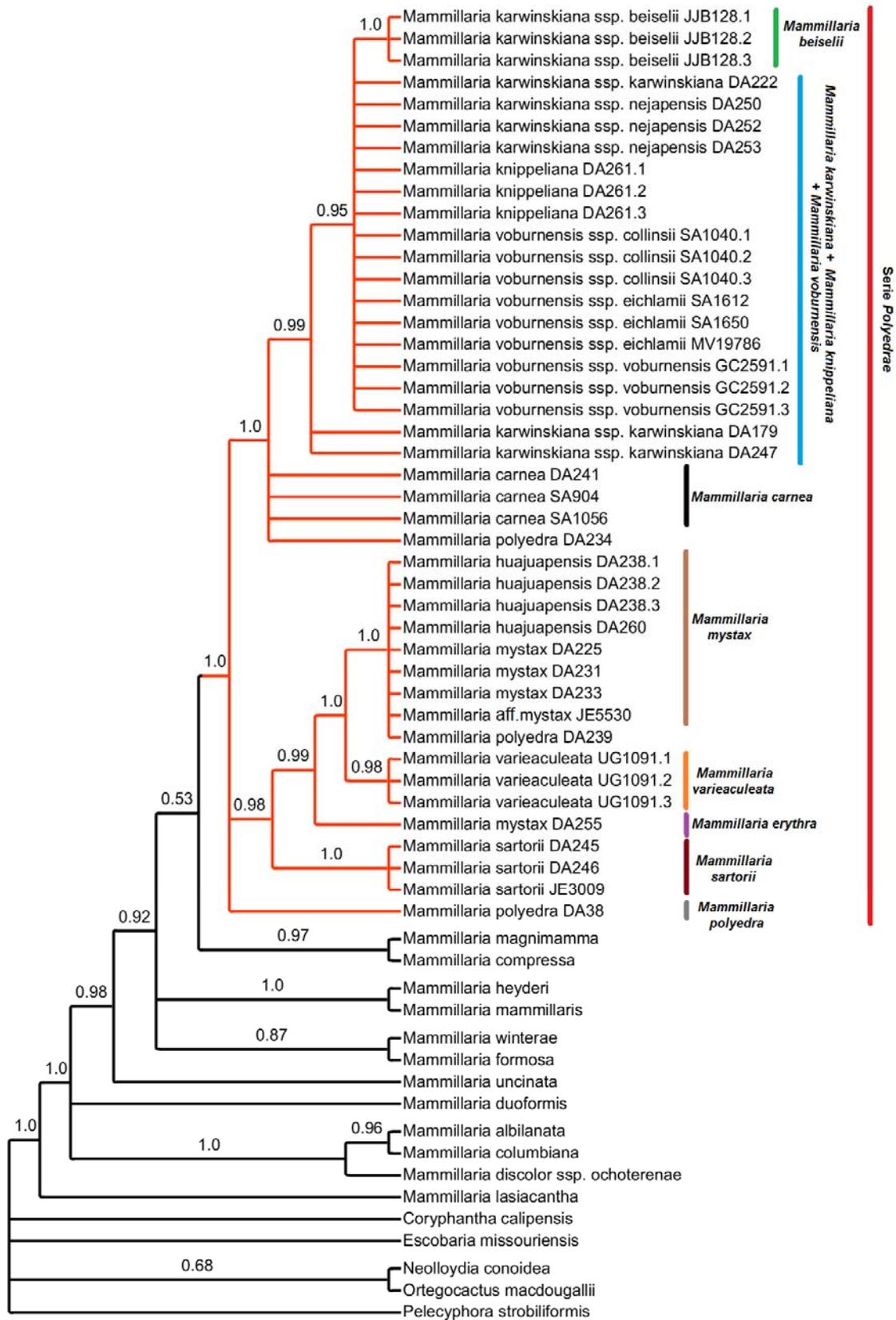


Figura 3. Árbol de mayoría obtenido por inferencia Bayesiana resultado de la combinación de cuatro marcadores moleculares en el que se delimitan a las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae*. Cada terminal correspondiente a los individuos de la serie *Polyedrae* lleva el número de colecta que se indica en la discusión de los resultados.

Cuadro 8. Resumen de los cambios observados en el alineamiento general y que definieron a las especies delimitadas con marcadores moleculares. *Cambio ocurrido en la terminal *Mammillaria polyedra*_DA234, **Cambio ocurrido en la terminal *M. polyedra*_DA38. ***Cambio ocurrido en la terminal *M. polyedra*_DA239.

Especie	<i>matK</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>rpl16</i>	<i>trnQ-rps16</i>	Consenso
<i>M. beiselii</i>	-	-	Gap posición 1436 G → A Posición 1694 A → T Posición 1888	-	Un GAP Dos sustituciones
<i>M. carnea</i>	-	-	T → A Posición 1888	-	-
<i>M. erythra</i>	-	G → T Posición 1087 A → C Posición 1088	A → T Posición 1950 A → G Posición 2314	-	Cuatro sustituciones
<i>M. huajuapensis</i>	-	T → G Posición 1087 C → A Posición 1088	G → A Posición 2314	-	Tres sustituciones
<i>M. karwinskiana</i>	-	-	T → A Posición 1888	-	-
<i>M. knippeliana</i>	-	-	T → A Posición 1888	-	-
<i>M. mystax</i>	-	T → G Posición 1087 C → A Posición 1087	G → A Posición 2314	-	Tres sustituciones
<i>M. polyedra</i>	-	T → G*** Posición 1087 C → A*** Posición 1088	T → A Posición 1888* T → G Posición 1955** A → T Posición 1888**	-	-
<i>M. sartorii</i>	-	-	A → T Posición 1925	T → G Posición 2594 G → T Posición 2654	Tres sustituciones
<i>M. varieaculeata</i>	-	G → T Posición 1087 A → C Posición 1088	G → A Posición 1368	-	Tres sustituciones
<i>M. voburnensis</i>	-	-	T → A Posición 1888	-	-

5.3 Análisis filogenético con datos morfológicos

A partir de los 13 taxones reconocidos para la serie *Polyedrae* en la sección anterior, se realizó un análisis filogenético mediante el criterio de parsimonia, utilizando un grupo externo con 17 taxones (Cuadro 9).

Cuadro 9. Taxones empleados en el análisis filogenético.

Grupo interno	
Sección <i>Mammillaria</i> serie <i>Polyedrae</i>	<i>Mammillaria beisei</i> = <i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>beisei</i> <i>M. carnea</i> <i>M. erythra</i> = <i>M. mystax</i> _DA255 <i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>karwinskiana</i> <i>M. karwinskiana</i> subsp. <i>nejapensis</i> <i>M. mystax</i> <i>M. knippeliana</i> <i>M. polyedra</i> <i>M. sartorii</i> <i>M. varieaculeata</i> <i>M. voburnensis</i> subsp. <i>voburnensis</i> <i>M. voburnensis</i> subsp. <i>collinsii</i> <i>M. voburnensis</i> subsp. <i>eichlamii</i>
Grupo externo	
Sección <i>Mammillaria</i> serie <i>Mammillaria</i>	<i>M. compressa</i> <i>M. heyderi</i> <i>M. magnimmama</i> <i>M. mammillaris</i> <i>M. uncinata</i> <i>M. winterae</i>
Sección <i>Mammillaria</i> serie <i>Leucocephalae</i>	<i>M. formosa</i>
Sección <i>Subhydrochilus</i> , serie <i>Supertextae</i>	<i>M. columbiana</i> <i>M. albilanata</i>
Sección <i>Subhydrochilus</i> , serie <i>Polyacanthae</i>	<i>M. duoformis</i>
Sección <i>Subhydrochilus</i> , Serie <i>Heterochlorae</i>	<i>M. discolor</i> subsp. <i>ochoterenae</i>
Sección <i>Hydrochilus</i> , serie <i>Lasiacanthae</i>	<i>M. lasiacantha</i> <i>Coryphantha calipensis</i> <i>Escobaria missouriensis</i> <i>Neolloydia conoidea</i> <i>Ortegocactus macdougallii</i> <i>Pelecyphora strobiliformis</i>

Se obtuvo el árbol de consenso estricto a partir de 504 árboles más parsimoniosos, índice de consistencia (CI) = 0.3626 y de retención (RI) = 0.5812 (Fig. 4). *Mammillaria* serie *Polyedrae* es un grupo monofilético con un soporte bajo (Bootstrap [bts]=58 / Jackknife [jck]=57). Los caracteres que definen a este clado son una sinapomorfia (3: base del tubérculo tetragonal) y tres homoplasias (5: ángulo ventral en el tubérculo, 18: margen de los tépalos externos ciliados y 32: semilla con curvatura de las paredes anticlinales de la

célula tipo omega). *Mammillaria carnea* es la especie hermana del resto de los miembros de la serie *Polyedrae*. Hacia el interior del clado *Polyedrae* no se obtuvieron valores de soporte de ramas y no se definió al grupo hermano de la serie ya que las terminales del grupo hermano forman una politomía. El segundo clado con soporte lo constituyen las terminales correspondientes al género *Mammillaria* (59 bts / 55 jck), definido por una homoplasia (27: ausencia de serotinia). *Mammillaria compressa* (sección *Mammillaria*) conforma una politomía con los miembros del grupo hermano (Fig. 4).

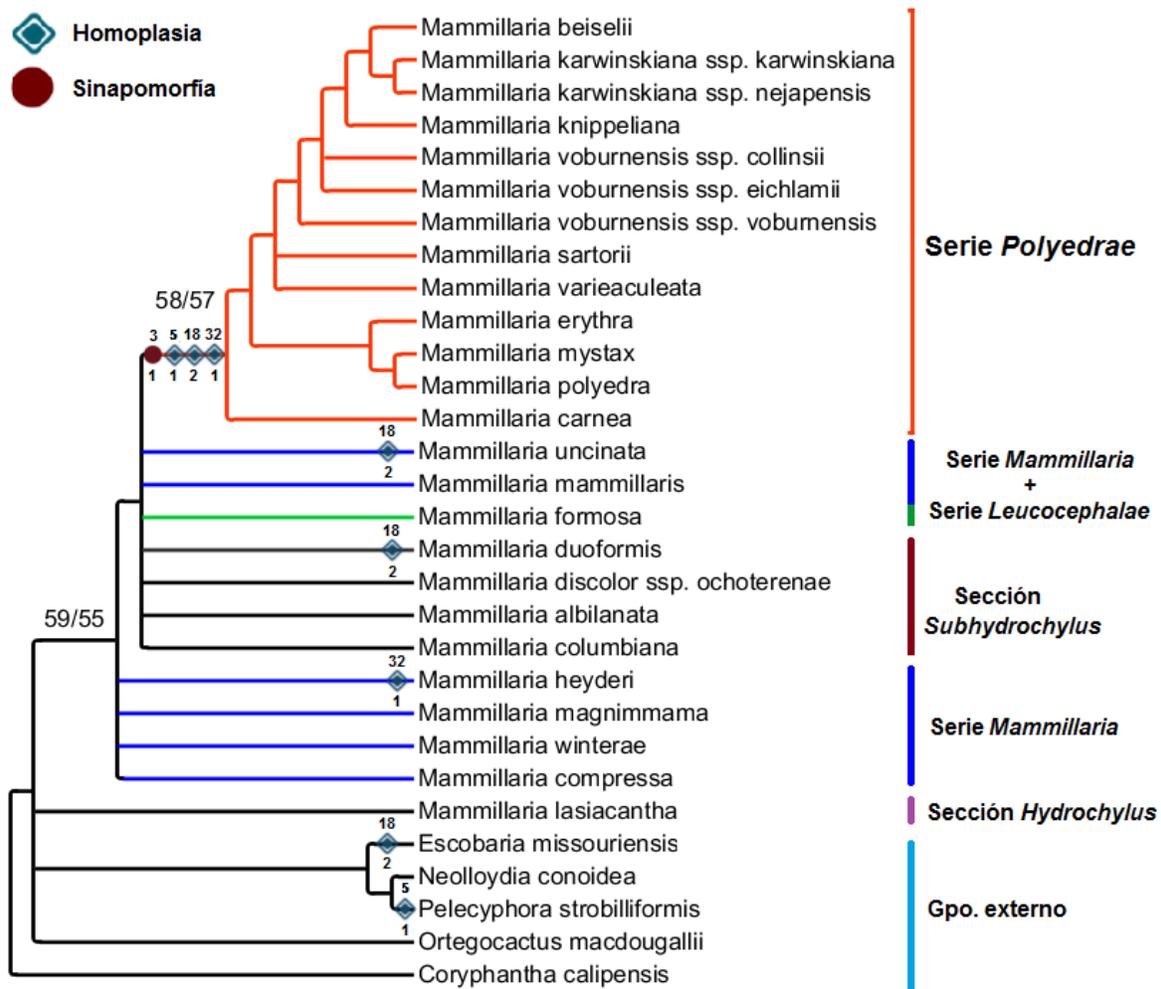


Figura 4. Árbol de consenso estricto de los 504 más parsimoniosos con una longitud 182 pasos obtenido a partir de caracteres morfológicos. En rojo el clado correspondiente a las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae* y sobre la rama los caracteres y los estados que lo definen. La cifra de lado derecho corresponde al valor de *bootstrap* y a la izquierda el valor de *Jackknife* y el valor ubicado en la parte superior corresponde al número de carácter y el valor inferior es el estado, los cuales se detallan en el apéndice 3.

5.4 Análisis filogenético con datos moleculares

El análisis filogenético utilizando el criterio de parsimonia con cuatro marcadores moleculares (*matK*, *psbA-trnH*, *rpl16*, *trnQ-rps16*), se realizó para los mismos taxones del del análisis filogenético con datos morfológicos (Cuadro 8). La posición y longitud de cada marcador en el alineamiento se detalla en el Cuadro 6. Se obtuvo el árbol de consenso estricto a partir de 102 más parsimoniosos, con valores de CI = 0.8106, HI = 0.1894, RI = 0.6838 y RC = 0.5543 (Fig. 5). *Mammillaria* serie *Polyedrae* se recupera como grupo monofilético con soporte moderado (91 bts / 87 jck). *Polyedrae* se define por cinco sinapomorfias moleculares en *rpl16*, ubicadas en la posiciones 2044, 2054, 2093, 2069 y 2203 y una homoplasia en la posición 1956 de la matriz concatenada.

Dos grandes clados se recuperan al interior de *Polyedrae*, el primero corresponde al grupo *M. mystax* (Reppenhagen, 1992), con soporte bajo (63 bts / 50 jck) y se apoya por una mutación ubicada en *trnQ-rps16* en la posición 2500 de la matriz concatenada. Este clado comprende a *M. mystax*, *M. erythra*, *M. sartorii* y *M. variaeculeata*, en esta hipótesis *M. sartorii* es la especie hermana. Se recupera una segunda relación de hermandad entre *M. erythra*, *M. mystax* y *M. variaeculeata* siendo la primera quien se resuelve como la especie hermana con un soporte bajo (75 bts / 64 jck), apoyado por dos gaps en *psbA-trnH* (posiciones 1055 a 1061) y en *trnQ-rps16* (posiciones 2609 a 2638) y una mutación en *rpl16* ubicada en la posición 2331. La hermandad entre *M. mystax* y *M. variaeculeata* tiene un soporte moderado (90 bts / 82 jck) y se define por una sinapomorfía en la posición 1985 y dos homoplasias en la posición 1925 y 2314, las cuales se ubican en *rpl16*. El segundo clado corresponde a los miembros del grupo *M. karwinskiana* (Reppenhagen, 1992) y presenta un soporte moderado (92 bts / 87 jck), además se incorpora *M. carnea*. Este clado está definido por tres sinapomorfias en las posiciones 1261, 1950 y 2103, así como una homoplasia en la posición 1889, ubicadas en *rpl16*. Bajo esta hipótesis se encontró que *M. polyedra* es la especie hermana del resto de las especies de la serie.

Aunque no se resuelve la hermandad de *Polyedrae*, la presente hipótesis revela que las terminales correspondientes a las series *Mammillaria* y *Leucocephalae* forman un clado aunque con soporte bajo (58 bts/52 jck), apoyado por dos homoplasias ubicadas en las posiciones 2006 y 2143 correspondientes a *rpl16*.

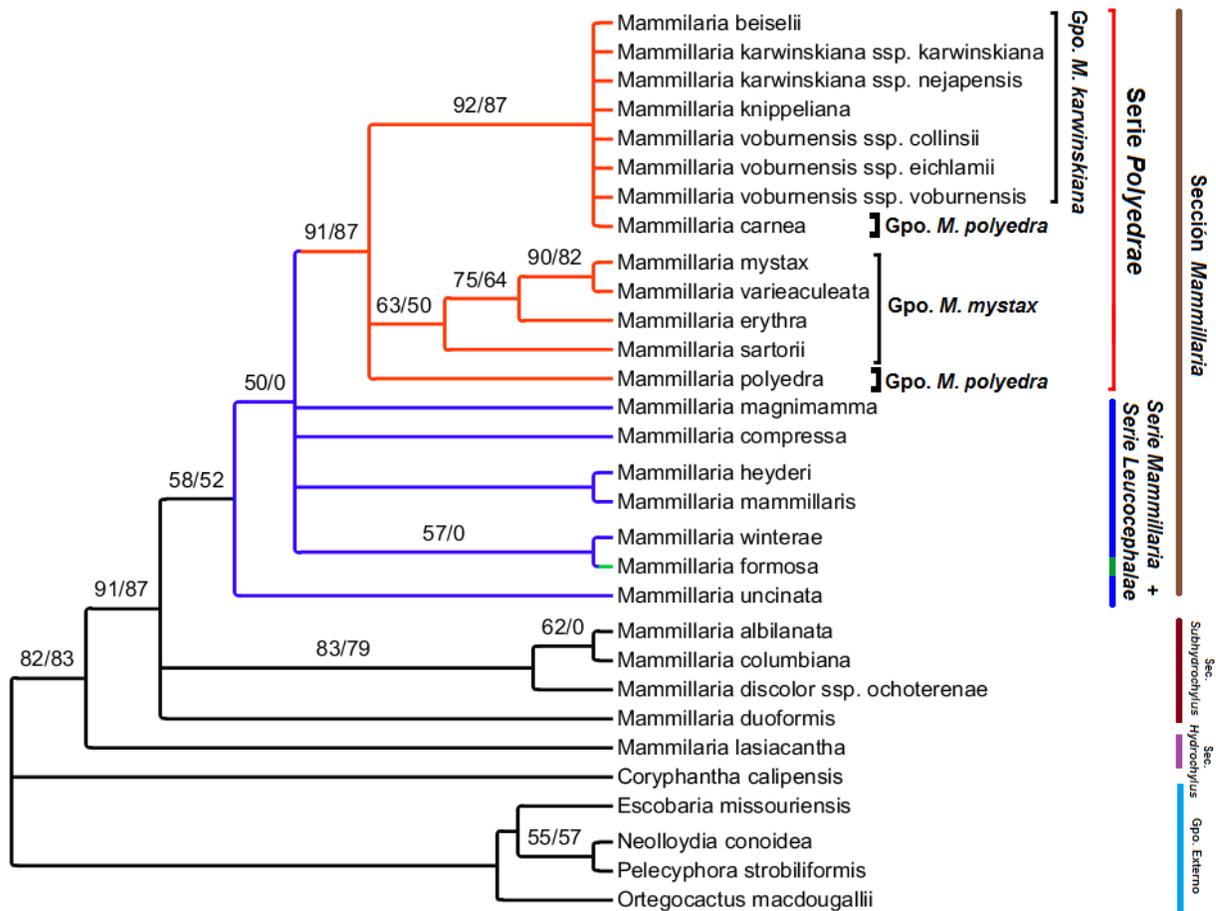


Figura 5. Árbol de consenso estricto de los 102 más parsimoniosos con una longitud 452 pasos obtenido a partir de cuatro marcadores moleculares (*matK*, *psbA-trnH*, *rpl16* y *trnQ-rps16*). En color rojo el clado correspondiente a las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae*. La cifra de lado derecho corresponde al valor de *bootstrap* y a la izquierda el valor de *Jackknife*.

El criterio de Inferencia Bayesiana registró una topología congruente con la obtenida mediante parsimonia, incluyendo la monofilia de *Mammillaria* serie *Polyedrae* con un valor de probabilidad posterior fuerte (1.0 PP) (Fig. 6). En el clado correspondiente al grupo *M. mystax* (0.9 pp) resuelve a *M. sartori* como el taxón más tempranamente diversificado del clado, seguido de *M. erythra* (0.98 PP) y apoya a su vez la hermandad entre *M. mystax* y *M. varieaculeata* quienes comparten un soporte fuerte (1.0 PP). En el clado definido como grupo *M. karwinskiana* (0.99 PP) y *M. carnea* se resuelve como la especie hermana del resto del grupo. De forma consistente con el análisis filogenético con datos morfológicos, *M. compressa* se recupera como parte de la serie *Mammillaria*.

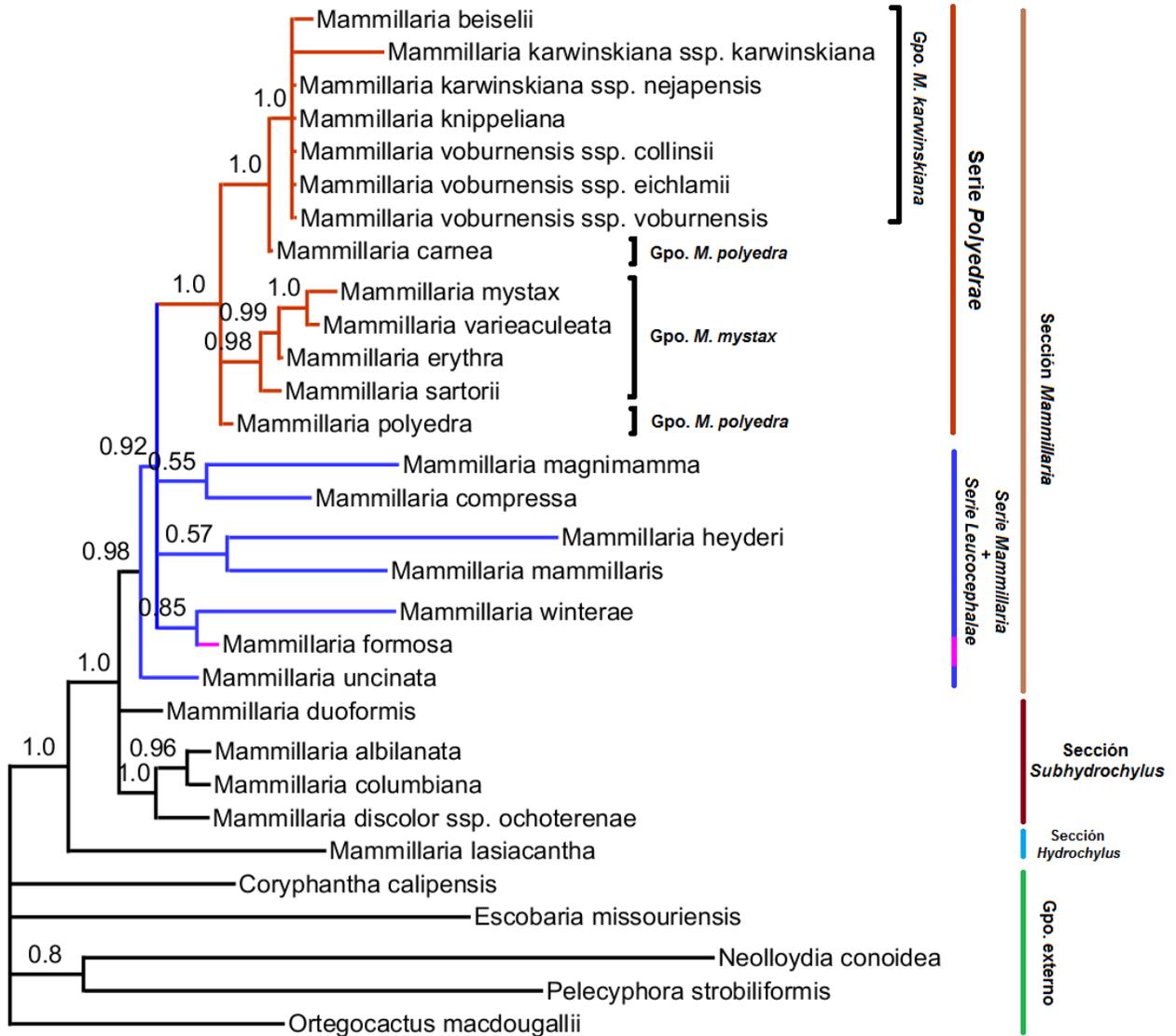


Figura 6. Árbol de mayoría obtenido por inferencia Bayesiana a partir de cuatro marcadores moleculares (*matK*, *psbA-trnH*, *rpl16* y *trnQ-rps16*). En color rojo el clado correspondiente a las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae*. Las cifras corresponden a los valores de probabilidad posterior.

5.5 Distribución geográfica

La serie *Polyedrae* se distribuye en el sur y occidente de México, Guatemala, Honduras, El Salvador y Nicaragua. La principal barrera al norte de su distribución es la Faja Volcánica Transmexicana y al sur la Cordillera Volcánica de Nicaragua. Al oriente limita con la Sierra Madre Oriental, esta cadena montañosa continúa hasta Oaxaca donde autores como Ortíz *et al.* (2004) la nombran como Sierra Madre de Oaxaca, el cual corresponde al límite más oriental para los miembros de la serie *Polyedrae*. En tanto que al poniente limita con la Depresión del Río Balsas y la Sierra Madre del Sur. Las especies ocupan un gradiente de altitud que va desde nivel del mar (p. ej. *Mammillaria beisei*) hasta los 2600 metros (p. ej. *M. mystax*). De acuerdo con la hipótesis filogenética aquí apoyada, el grupo hermano de la serie *Polyedrae* comprende a las series *Mammillaria* y *Leucocephalae*. La primera se distribuye principalmente en el Altiplano Central, las estribaciones de la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre Occidental, la Faja Volcánica Transmexicana, así como la Península de Baja California y poblaciones marginales en Oaxaca, Puebla y Yucatán, llegando incluso a Colombia y Venezuela. La serie *Leucocephalae* se distribuye principalmente en las estribaciones de la Sierra Madre Oriental con algunas poblaciones en el Altiplano Central (Fig. 7).

Nueve de las diez especies que integran la serie *Polyedrae* son endémicas de México, mientras que *Mammillaria voburnensis* se comparte entre México y los cuatro países centroamericanos citados anteriormente, por lo tanto, su distribución es netamente mesoamericana, desde el Istmo de Tehuantepec en México hasta la Meseta de los Pueblos en Nicaragua (Fig. 8). La Sierra Madre Oriental es el principal límite en la distribución de *M. erythra* y *M. sartorii*, las cuales se distribuyen en las estribaciones orientadas hacia la vertiente del Golfo. Tres especies son nativas de la Depresión del Balsas, de las cuales *M. polyedra* es de amplia distribución, *M. beisei* se encuentra en la Cuenca baja del Balsas y continúa por la costa del Pacífico hasta las Islas Marías, mientras que *M. knippeliana* se restringe a la Cuenca alta del Balsas (Fig. 8). En el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y zonas adyacentes se distribuyen cinco especies, de las cuales *M. carnea* y *M. varieaculeata* son endémicas, mientras que *M. karwinskiana*, *M. mystax* y *M. polyedra* extienden su distribución hacia la Mixteca y Valles Centrales, en Oaxaca (Fig. 9). El registro de *M. sartorii* para Querétaro (Scheinvar, 2004, MEXU) corresponde a *M. compressa*.

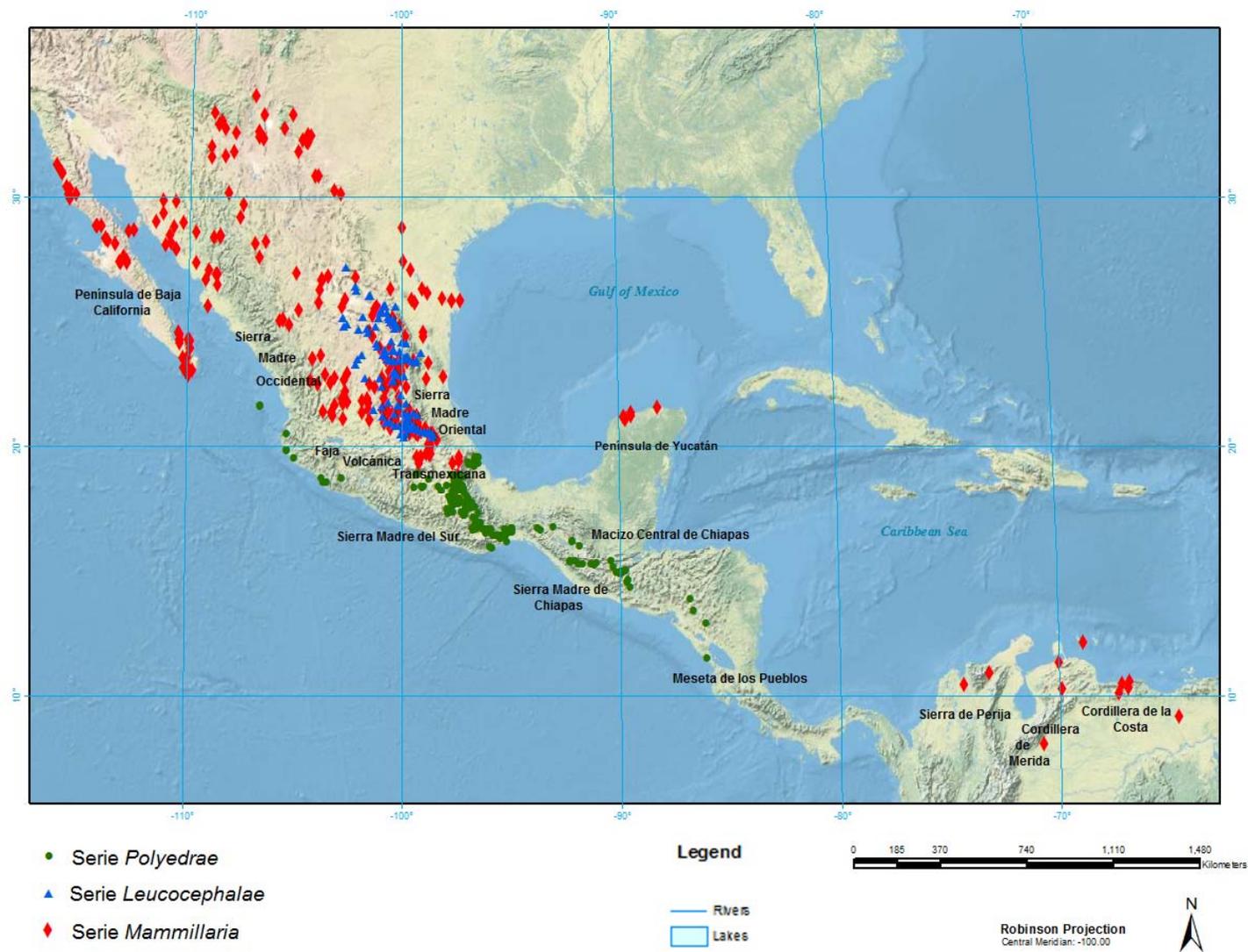


Figura 7. Mapa de distribución de las tres series que integran a la sección *Mammillaria*: *Polyedrae*, *Mammillaria* y *Leucocephalae*.

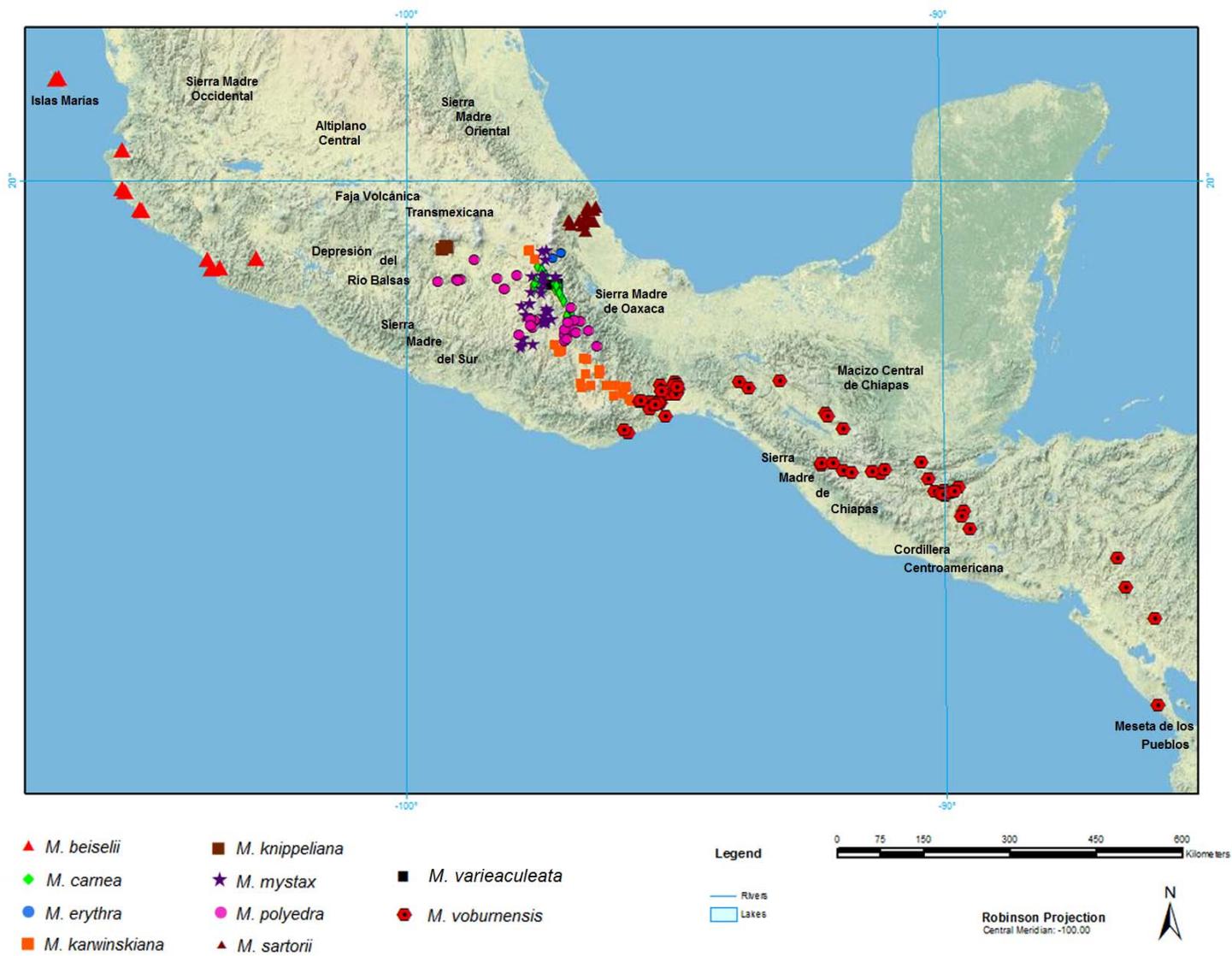


Figura 8. Mapa de distribución de las especies reconocidas para *Mammillaria* serie *Polyedrae*.

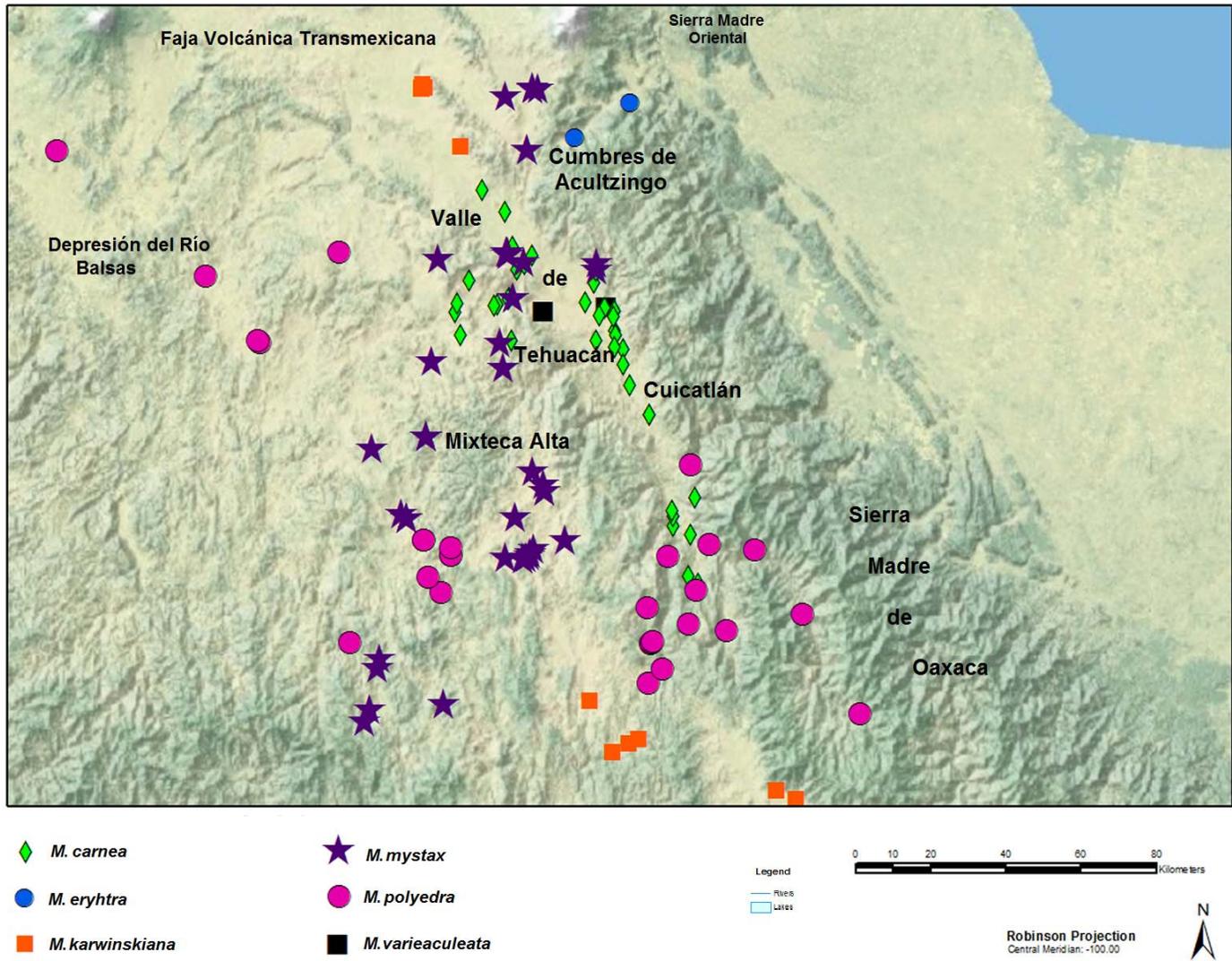


Figura 9. Mapa de distribución de las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae* distribuidas en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y zonas adyacentes.

El bosque tropical caducifolio es donde más especies se encuentran (ocho especies), mientras que el menor número de especies se registró en el bosque espinoso (una especie), y pastizal (una especie). Algunas especies se pueden distribuir en más de un tipo de vegetación, sin embargo se encontró que cinco especies se restringen a un solo tipo (Cuadro 10). La asociación de las especies con respecto al tipo de sustrato varía de tal forma que se les pueden localizar sobre sustratos derivados de rocas volcánicas (p. ej. *Mammillaria knippeliana* y *M. erythra*) hasta suelos de origen sedimentario (p. ej. *M. carnea*), creciendo sobre pendientes pronunciadas (p. ej. *M. sartorii*) o sobre suelos con pendiente nula (p. ej. *M. karwinskiana*).

Cuadro 10: Especies de la serie *Polyedrae* y su distribución por ambientes y por límites políticos. Clave para los tipos y asociaciones vegetales: BTC: Bosque tropical caducifolio, BTS: Bosque tropical subcaducifolio, BE: Bosque espinoso, BPQ: Bosque de *Pinus* y *Quercus*, BQ: Bosque de *Quercus*, MX: matorral xerófilo, PZ: pastizal, VR: vegetación asociada a corrientes de agua. Clave para los países y estados: Cha: Chiapas, Col: Colima, Jal: Jalisco, Mich: Michoacán, Mor: Morelos, Nay: Nayarit, Oax: Oaxaca, Pue: Puebla, Ver: Veracruz, SAL: El Salvador, GT: Guatemala, HON: Honduras, MX: México y NIC: Nicaragua.

Especie	Gradiente de altitud (m)	Tipo de vegetación o asociación	País o estado
<i>Mammillaria beisei</i>	8-1170	BTC	Jal. Col. Mich. Nay.
<i>M. carnea</i>	510-1890	BTC, BTS, MX	Oax. Pue.
<i>M. erythra</i>	1530-1570	VR	Ver.
<i>M. karwinskiana</i>	570-2210	BPQ, BTC, BTS, MX, PZ, VR	Oax. Pue.
<i>M. knippeliana</i>	1410-1650	BTC	Mor.
<i>M. mystax</i>	1670-2600	BPQ, BQ, BTC, MX	Oax. Pue.
<i>M. polyedra</i>	690-2160	BPQ, BQ, BTC, MX	Gue. Mor. Oax. Pue.
<i>M. sartorii</i>	50-1000	BTC, BTS	Ver.
<i>M. variaeculeata</i>	1100-1130	MX	Pue.
<i>M. voburnensis</i>	50-1980	BE, BTC, BTS	MX (Cha. Oax.) GT, SAL. HON. NIC.

6. DISCUSIÓN

6.1 Reconocimiento de las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae*

En función del análisis multivariado los caracteres que contribuyen en forma significativa a las funciones canónicas discriminantes y ayudan al reconocimiento de especies son el número y longitud de las espinas radiales, largo y ancho de las aréolas, longitud de las cerdas y longitud de las flores. De estas seis funciones el número de espinas radiales es particularmente informativo ya que divide a las especies en dos grandes grupos (Fig. 1). Existen diferentes interpretaciones sobre la distinción entre espinas radiales y centrales en el grupo estudiado. Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) señalan que en este grupo es frecuente que no existan espinas radiales y por ello las espinas centrales ocupen una posición más periférica, otros autores como Arias *et al.* (1997) indican que en algunas especies de la serie *Polyedrae*, las espinas radiales son caducas y las espinas centrales son persistentes. A este respecto, Gibson y Nobel (1986) señalan que la formación de las espinas radiales y centrales sigue un patrón de desarrollo y que cada juego de espinas se origina a partir de meristemas definidos. Los dos primeros meristemas originan las espinas radiales y están en posición lateral; mientras que una primera espina central se origina del tercer primordio ubicado en el centro de la aréola. Bravo-Hollis (1978) argumenta que las espinas radiales además de formarse en la periferia de la areola, generalmente son más delgadas y numerosas, por otro lado las espinas centrales tienden a ser más gruesas y escasas que las anteriores. Con estas consideraciones se evaluó que en un grupo de especies como *Mammillaria karwinskiana* y *M. polyedra* (entre otras), no es fácil distinguir las espinas radiales de las centrales como en el resto de las especies.

El conocimiento de la variación de los cinco caracteres vegetativos es significativo a partir del resultado obtenido en el ACD, ya que un número elevado de ejemplares de herbario carecen de estructuras reproductivas (prácticamente todos los ejemplares consultados). Se considera que en el proceso de determinación de las especies de la serie *Polyedrae*, la combinación de los caracteres vegetativos con los reproductivos ayudará en la determinación taxonómica. En este sentido se elaboró una clave para la identificación de las especie (Apéndice 2).

Las especies delimitadas con caracteres morfológicos posteriormente se corroboraron utilizando cuatro marcadores moleculares encontrando diferencias en cuanto a la capacidad para discriminar entre especies. La variabilidad entre marcadores parece que no

es constante en Cactaceae. Por ejemplo, Ritz *et al.*, (2007) registraron que la combinación de los espaciadores intergénicos *atpB-rbcL*, *trnL-trnF* y *trnK-rps16* permitió recuperar como grupos monofiléticos las terminales de una misma especie pertenecientes a *Rebutia*. En la delimitación de especies del género *Rhipsalis*, Korotkova *et al.* (2011) señalan que los marcador más variables y con mayor dificultad de alineamiento fueron *rps3-rpl16*, *psbA-trnH* y *trnQ-rps16*. En el contexto de la filogenia de la tribu Cacteeae Vázquez-Sánchez *et al.* (2013) emplearon la combinación de *matK*, *rbcL*, *rpl16*, *psbA-trnH* y *trnL-F* y algunas especies del género *Ferocactus* fueron discriminadas entre sí, tal es el caso de *F. cylindraceus* subsp. *cylindraceus* y la subsp. *tortulispinus* quienes no forman un clado. De igual forma *F. wislizenii* y *F. herrerae* representan taxones diferentes, ya que propuesta previas aseveraban que las dos entidades eran una sola especie (Guzmán *et al.*, 2003).

Con la combinación de marcadores de cloroplasto y secuencias de núcleo, Majure *et al.* (2012) estudiaron la filogenia de *Opuntia* s.s., encontraron que con la combinación de cuatro espaciadores intergénicos *atpB-rbcL*, *ndhF-rpl32*, *psbJ-petA* y *trnL-F*; dos marcadores de plastidos *matK* y *ycf1* y dos marcadores nucleares: ITS1 y *ppc* recuperaron cerca de 90% de las terminales de una sola especie en clados monofiléticos, al mismo tiempo discriminó a dos terminales correspondientes a *Opuntia cochenillifera* en distintos clados. Yesson *et al.* (2011) sometieron a prueba la efectividad de los marcadores moleculares propuestos por CBOL y empleando sólo *matK* identificaron a menos del 77% de un total 655 especímenes, en tanto que el uso de la región del Espaciador Transcrito Interno (ITS1) fue parcialmente útil en la identificación de especies de la subfamilia Opuntioideae, no así con los miembros de la subfamilia Cactoideae donde el alto grado de polimorfismo en las secuencias no pudieron identificar positivamente a las especies de algunos géneros como *Ariocarpus*. En *Mammillaria* el empleo de las regiones correspondientes a ITS1, ITS2 y 5.8S rDNA no agrupan en un solo clado terminales de una misma especie (Harpke y Peterson, 2006).

En este trabajo se observó que *rpl16* fue el marcador con mayor variabilidad de entre los marcadores utilizados (Fig. 2), seguido por *psbA-trnH* que en conjunto con *trnQ-rps16* han sido aceptados como secuencias complementarias de las secuencias universales del código de barras, ofreciendo la ventaja de ser específicos para determinados grupos (CBOL Plant Working Group, 2009). Por otra parte, *matK* es el marcador con menor variación y no es posible determinar especies de cactáceas, lo mismo sucedió en la

determinación de especies del género *Rhipsalis* donde el porcentaje de caracteres variables es el más bajo (Korotkova *et al.*, 2011). Aunque *matK* se puede amplificar con facilidad para Cactaceae, no presenta dos de las tres características que debe reunir un buen código de barras: universalidad y poder de discriminación (CBOL, *Plant Working Group*, 2009). Por lo tanto es recomendable agregar otros marcadores como *ycf1* el cual revela variación entre secuencias de especies cercanamente relacionadas (Franck *et al.*, 2012) y el gen nuclear con un bajo número de copias *L6*, el cual ha demostrado que es fácil de amplificar y cuya resolución es filogenéticamente útil a distintos niveles taxonómicos en Cactaceae (Plume, *et al.* 2013).

Revisiones taxonómicas previas fueron incongruentes en el número de especies para la serie *Polyedrae*. Mientras que autores como Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) reconocen hasta 19 especies y Hunt (2006, 2012) solo ocho (Cuadro 2). En esta tesis, cuatro especies son identificadas de forma consistente con caracteres morfológicos y los marcadores moleculares utilizados, estas son: *Mammillaria beisei*, *M. mystax*, *M. sartorii* y *M. varieaculeata*, las cuales se discuten a continuación.

Mammillaria beisei: a partir de los análisis multivariados y moleculares es posible reconocer a *M. beisei* como una especie distinta. El ACD indica que la longitud de las areólas (0.24-0.40 cm) y de las cerdas (0.40-0.55 cm) permite discriminarla de las otras especies, mientras que el ACC corrobora que todos los individuos (100%) clasificados previamente corresponden a la especie. El análisis molecular recupera en un solo clado a las tres muestras analizadas (JJB128.1, JJB128.2 y JJB128.3). Hunt (2006) reconoció a este taxón como una subespecie *M. karwinskiana* subsp. *beisei* por considerar que solo representa parte de la variación geográfica de dicha especie. Sin embargo las diferencias morfológicas y moleculares detectadas en el presente estudio son evidencias que sustentan su reconocimiento como especie independiente de *M. karwinskiana* (Fig. 10A, Apéndice 1).

Mammillaria mystax: Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) señalan que *M. mystax* presenta amplia variación morfológica en la forma y el tamaño del tallo, disposición y color de las espinas, razón por la cual argumentan que *M. casoí*, *M. mixtecensis* y *M. huajuapensis* deben reconocerse como parte de la variación de una sola especie, *M. mystax*. El ACD indica que los valores de los caracteres vegetativos y reproductivos no

presentan diferencias estadísticas significativas entre los individuos clasificados a priori como *M. casoi* (DA233), *M. mixtecensis* (DA231) y *M. aff. mystax* (JE5530). En conjunto, las dimensiones de longitud (0.25-0.37 cm) y ancho (0.17-0.25 cm) de las aréolas, longitud de las cerdas (0.70-1.10 cm) y longitud de las flores (1.70-2.15 cm) las discrimina del resto de las especies. El ACC a su vez recuperó a todos los individuos en *M. mystax*. Sin embargo, el ACD y ACC permiten reconocer al 95% de los individuos determinados como *M. huajuapensis* y el 5% en *M. mystax*. El análisis con marcadores moleculares delimitó a las cuatro terminales de *M. mystax* (DA225, DA231, DA233 y JE5530), junto con las cuatro correspondientes a *M. huajuapensis* (DA238.1, DA238.2, DA238.3 y DA260) dentro de un clado con alto valor de probabilidad posterior (1.0). En consecuencia en esta tesis se reconoce que el conjunto de nombres señalados representa una sola especie: *M. mystax* (Fig. 10H-J, Apéndice 1). En cuanto a la variación morfológica detectada probablemente sea una respuesta asociada al ambiente llamada variación social, la cual deberá ser sujeta a un estudio particular. Morrone (2013) señala que el fenómeno de variación social sucede cuando poblaciones de una misma especie ocupan diferentes hábitats con diferencias climáticas dentro de una misma región, siendo capaz de inducir variantes morfológicas diferentes sobre todo en plantas. Es por ello que el análisis con marcadores moleculares son importantes sobre todo cuando se trata de especies con plasticidad fenotípica como las plantas en general.

Mammillaria sartorii: esta especie ha sido reconocida por diversos autores (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Reppenhagen, 1992 y Hunt, 2006). En el presente estudio, el análisis canónico discriminante reconoce a este taxón al presentar las estructuras de menor tamaño en comparación con otros miembros de la serie *Polyedrae*, como el ancho de las aréolas (0.08-0.20 cm), el largo de las flores (1.25-1.40 cm) y el largo del fruto (1.20-1.40 cm) dando como resultado que el 100% de los individuos se clasificaran dentro de su propio grupo (Cuadro 6). El resultado del ACD la situó en el plano de las especies que carecen de espinas radiales; sin embargo, Purpus (1911) en la descripción original señala que la especie si posee espinas radiales, mientras que Hunt (2006) enfatiza que en *M. sartorii* las espinas radiales son rudimentarias. En tanto que en el conjunto de los individuos analizados se observó que las espinas radiales sólo aparecen temporalmente en las ramas jóvenes y al madurar son deciduas. De forma complementaria el análisis molecular corrobora la delimitación morfológica al agrupar a las tres muestras en un sólo clado con un valor de probabilidad posterior igual a 1.0 (Fig. 10M, Apéndice 1).

Mammillaria varieaculeata: es una de las especies cuyo reconocimiento es controvertido, fue descrita por Buchenau (1966) a partir de muestras colectadas en el Valle de Tehuacán. Por mucho tiempo la zona de recolecta no fue ubicada, por lo que autores como Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) y Lüthy (1995) cuestionaron su validez. Arias *et al.* (1997) la redescubrieron en el mismo valle, sin embargo Hunt (2006) la considera afín a *M. mystax*, con atributos morfológicos cercanos a la serie *Supertextae*, con un probable origen híbrido sin ofrecer evidencias. El ACD permite discriminar a los individuos identificados previamente del resto de las especies, por poseer el mayor número de espinas radiales (16 a 22) principalmente. Las evidencias moleculares también apoyan esta aseveración, pues las tres muestras incluidas (UG1091.1, 1091.2 y 1091.3) forman un solo grupo con un apoyo de probabilidad posterior de 0.98. En consecuencia, se reconoce como una especie (Fig. 10N, Apéndice 1). Sobre su probable origen híbrido, no se cuenta con evidencias directas, pero en los análisis filogenéticos realizados con caracteres morfológicos y moleculares se relacionó enteramente con los otros miembros de la serie *Polyedrae*. Por lo tanto no se detectó ninguna evidencia que la pueda relacionar con la serie *Supertextae*.

El reconocimiento de especies a partir de atributos moleculares no se ha usado frecuentemente en Cactaceae y por ello se desconocen si hay especies crípticas. En este trabajo se encontró que una especie cuya delimitación a partir de caracteres morfológicos no fue posible, con el empleo de marcadores moleculares la discriminaron como una especie distinta (Fig. 10).

Mammillaria erythra: el ACC indicó que solo 40% de los individuos determinados *a priori* se clasificaron en su propia especie, mientras que 60% lo hacen con *M. mystax*. Cuando Reppenhagen (1988) describió a esta especie la comparó con *M. mystax*, señalando que difería por el número de espinas radiales (0 a 4 en *M. erythra* y de 8 a 14 en *M. mystax*), la longitud del fruto (2 cm en *M. erythra* y 3 a 5 cm en *M. mystax*) y por diferencias fenológicas (en *M. erythra* los frutos maduran 5 meses después de la fecundación y *M. mystax* fructifica doce meses después). Estos caracteres fueron evaluados y se encontró que si bien las dimensiones de los frutos difieren, 1.9-2.2 cm en *M. erythra* (DA255) y de 2.3 a 2.8 cm en *M. mystax* (DA225), el número de espinas radiales es continuo. La fenología indica que el tiempo de maduración de los frutos es variable, de seis a siete meses en *M. erythra* y de siete a ocho meses en *M. mystax*. La floración en *M. erythra* ocurre entre noviembre y enero, mientras que *M. mystax* es asincrónica y en función a su distribución, ya que los

individuos distribuidos en Puebla florecen en los meses de septiembre a marzo y los individuos que se distribuyen en Oaxaca florecen de febrero a abril. Los marcadores moleculares la discriminan de las terminales de *M. mystax* y se resuelve en el filograma como una terminal independiente (Fig. 3). Los marcadores que la delimitan son *psbA-trnH* (sustituciones en la posición 1087 y 1088) y *rpl16* (sustituciones en la posición 1950 y 2314), por lo que se asume que es una especie críptica, es decir que los individuos son morfológicamente indistinguibles pero cuyas secuencias de DNA difieren entre sí (Bickford *et al.*, 2007). Estos autores además, enfatizan que el descubrimiento de especies crípticas puede complementarse con la reinterpretación de los caracteres morfológicos y ecológicos. En el caso de *M. erythra* la longitud del fruto y la diferencia en el tiempo de floración pueden complementar su reconocimiento como una especie distinta a *M. mystax*. Schlick-Steiner *et al.* (2007) mencionan que incluso para las especies crípticas la morfología es importante, puesto que sigue siendo el criterio para la asignación de nombres taxonómicamente válidos.

Otro conjunto de cuatro especies fueron reconocidas a través del análisis multivariado pero los marcadores moleculares utilizados no ofrecieron suficiente variabilidad para corroborarlo y se describen enseguida (Fig. 10).

***Mammillaria carnea*:** el ACD permite reconocer a esta especie, por las dimensiones de la aréola (0.20-0.32 cm) y la ausencia de cerdas en las axilas del tubérculo. El ACC indica que los individuos determinados *a priori* se clasifican 100% en su propia especie (Fig. 10B, Apéndice 1). Los marcadores moleculares utilizados no tuvieron suficiente resolución para reconocer a esta especie, ya que las tres terminales (DA241, SA904 y SA1056) forman una politomia basal respecto a *M. beiselii*, *M. knippeliana*, *M. karwinskiana* y *M. voburnensis* (Fig. 3).

***Mammillaria karwinskiana*, *M. knippeliana* y *M. voburnensis*:** Una de las especies con mayor variación morfológica es *M. karwinskiana* y se han propuesto varios nombres para la especie (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). El ACD muestra que el ancho (0.20-0.23 cm) y la longitud (0.20-0.35 cm) de las aréolas, la longitud de las cerdas (0.70-1.10 cm) y la longitud del fruto (2.00-2.50 cm) son caracteres que permiten delimitarla. El ACC clasificó a los individuos determinados *a priori* entre *M. karwinskiana* subsp. *karwinskiana* y la subsp. *nejapensis* y sólo un individuo se clasificó en *M. knippeliana*. Sin embargo ninguno de ellos

se clasificó en *M. karwinskiana* ssp. *beiselii*. Un atributo morfológico que permite reconocer a *M. karwinskiana* es la ramificación dicotómica. Boke (1976) señala que la ramificación dicotómica es atípica en las angiospermas ya que se ha observado sólo en algunos grupos taxonómicos como en *Asclepias* (Asclepiadaceae) y que la mayoría de las veces es confundida con la ramificación acrótona. En la presente investigación se observó que *M. karwinskiana* la ramificación dicotómica es consistente en los individuos observados y las otras especies de la serie *Polyedrae* no se ramifican o lo hacen a partir de brotes laterales (Fig. 10E-F, Apéndice 1).

Mammillaria knippeliana fue descrita por Quehl (1907) a partir de ejemplares colectados en México sin señalar la localidad tipo, ni características de flores y frutos, pero la compara con *M. karwinskiana* por la forma de los tubérculos. El ACD indica que *M. knippeliana* es reconocida por la longitud de las cerdas (0.80-1.00 cm) y el ancho de los tépalos externos (0.25-0.30 cm) en tanto que la ramificación por brotes laterales puede apoyar a su identificación de forma complementaria. El ACC clasificó el 90% de los individuos en *M. knippeliana* y el resto en *M. karwinskiana*. Su identificación con marcadores moleculares no fue posible por lo que será necesario evaluar otro conjunto de secuencias para su delimitación (Fig. 10G, Apéndice 1).

Propuestas recientes no reconocen a *Mammillaria voburnensis* como una especie y la tratan como parte de *M. karwinskiana* (Hunt, 2012). Los resultados del análisis morfométrico revelan que se puede distinguir de *M. karwinskiana*. El ACD indica que los caracteres que la discriminan son el número de espinas radiales (5 a 9), la longitud de la areóla (0.18 a 0.25 cm), mientras que, el ACC clasificó a todos los individuos identificados *a priori* entre las subespecies de *M. voburnensis* pero ninguno en *M. karwinskiana*. Dos de las características que distinguen a *M. voburnensis* de *M. karwinskiana* son la presencia de espinas radiales y centrales. Hunt (2006) señala que *M. karwinskiana* ocasionalmente puede presentar los dos tipos de espinas, en tanto que los ejemplares cotejados en los herbarios como en campo sólo presentan espinas centrales. Éste carácter probablemente ha sido malinterpretado, pues en ocasiones una de las espinas centrales tiene la base más engrosada y al estar en un mismo plano y punto de emergencia se proyecta de forma ascendente. En *M. voburnensis* las espinas radiales y centrales están en distintos planos y emergen en distintos sitios de la aréola y de acuerdo con Gibson y Nobel (1986) en cada plano se ubican meristemas específicos para cada juego de espinas. La segunda

característica es la forma en que ramifican, *M. voburnensis* ramifica por desarrollo de brotes laterales, en tanto que, *M. karwinskiana* lo hace a partir del meristemo apical. Otro carácter que distingue a *M. voburnensis* es la forma orbicular a elíptica de las aréolas, ya que en *M. karwinskiana* son obovadas. Este conjunto de caracteres han sido empleados por Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) y Reppenhagen (1992), en este trabajo para delimitar y reconocer a *M. voburnensis*, aunque el análisis molecular impide separarla de *M. karwinskiana* y *M. knippeliana* (Fig. 10Ñ-P, Apéndice 1).

Solo una especie que fue delimitada por medio del análisis multivariado pero que las terminales se distribuyeron de manera independiente en el filograma.

Mammillaria polyedra: La delimitación de esta especie fue posible usando caracteres morfológicos. Su reconocimiento es consistente entre distintos autores (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Reppenhagen, 1992; Hunt, 2006). El ACD reveló que la longitud de las cerdas (0.40-0.70 cm) y el ancho de la base del tubérculo (0.65-1.00 cm) pueden distinguirla, junto con el color rosado de las flores. El ACC clasificó 95% de los individuos determinados *a priori* en su especie y el 5% restante en *M. knippeliana*. Sin embargo el reconocimiento de esta especie mediante marcadores moleculares no fue congruente con la morfología, ya que las tres muestras se agruparon con otras especies. La muestra *M. polyedra* DA239 se agrupa con las terminales de *M. mystax*; *M. polyedra* DA234 se ubica en un peine junto a *M. carnea* y *M. polyedra* DA38 se resuelve como una terminal independiente (Fig. 2).

En el caso de las muestras DA239 y DA234 una probable causa del agrupamiento obtenido sea el flujo génico entre poblaciones, que esté originando diferentes grados de introgresión. Petit y Excoffier (2009) explican que si una especie amplía su rango de distribución entrando en simpatria con otras especies relacionadas filogenéticamente y las barreras reproductivas son débiles ocurrirá introgresión asimétrica, entonces según el tipo de marcador molecular empleado, será el grado de sesgo en los resultados, en donde los organelos que son particularmente propensos a la introgresión serán aquellos que están ligados a un tipo de herencia uniparental (ya sea materna o paterna). En Cactaceae los genes del cloroplasto están ligados a la herencia materna (Gorelick, 2002) por lo que habrá sesgo en cuanto a los resultados esperados. Es recomendable emplear para *M. polyedra* marcadores nucleares para detectar procesos de hibridación los cuales son menos

propensos a la introgresión (Petit y Excoffier, 2009). Otra herramienta que puede dilucidar el fenómeno de la introgresión es el empleo de microsatélites los cuales son abundantes en genomas nucleares y con su análisis se pueden inferir cambios en las frecuencias alélicas y seguir la dirección del flujo génico (González, 2003).

Una segunda fuente de error puede ser la retención de polimorfismos ancestrales en las secuencias. Funk y Omland (2003) señalan que este fenómeno es la causa de que ocurra parafilia y no monofilia a nivel de especies. Dentro de cualquier especie los distintos alelos en un locus particular tienen su propia historia, algunos alelos compartidos son más recientes y otros más antiguos, por lo tanto, cuando se da la división aleatoria de copias de los alelos en la especiación generalmente resultará que cada especie hija del linaje A1 posea ciertos alelos que están más estrechamente relacionados entre sí en comparación con otras especies hijas del linaje hipotético A2 en donde esos alelos se perderán por efecto de la deriva génica y en el linaje A1 dichos alelos supervivirán y toda la variación intraespecífica es reflejo de mutaciones post-especiación. En el caso de *Mammillaria polyedra* para aceptar o rechazar esta hipótesis, se requiere un estudio *ex profeso* pues es necesario inferir el tamaño efectivo de la población ancestral, además, es necesario analizar si el tiempo transcurrido desde la última especiación también es corto (es una especie joven), o si los polimorfismos ancestrales aun persistan en la actualidad, dado que el tamaño efectivo de la población moderna es grande (Fazekas *et al*, 2009).

Sería aconsejable ampliar el muestreo incluyendo a las poblaciones de Guerrero y las ubicadas en la Sierra de Ixtlán, Oaxaca para conocer la variación a nivel de secuencias y determinar si los eventos aquí señalados aparecen de manera consistente a lo largo del área de distribución. Por ahora, la muestra *M. polyedra* DA38 procedente de Ixtaltepec, Oaxaca, se considera que representa a la especie, ya que es la más próxima a la localidad tipo señalada por Martius (1832), esto es, cerca de Oaxaca (Fig. K-LI, Apéndice 1).

Dadas estas circunstancias la morfología no puede desestimarse, pese a que la crítica indica que la morfología se ve influenciada por el ambiente, que en ocasiones no es de utilidad para identificar especies que son morfológicamente homogéneas y que se llegan a usar trampas en las claves de identificación, por ejemplo incluir datos de distribución geográfica (Packer *et al.*, 2009). Lo cierto es que el conocimiento de la morfología se adquiere de forma empírica y por ello la necesidad de que los biólogos aprendan detalles

de los organismos para asegurar la identificación correcta puede prevenir o retrasar la propuesta de hipótesis generales con base en los datos de secuencias extraídos de entidades desconocidas (Will y Rubinoff, 2004). Es por ello que autores como Paz *et al.*, (2011) apoyan la propuesta donde los códigos de barra de DNA no deben excluir a la taxonomía que se basa en caracteres morfológicos diagnósticos y ser empleados como herramienta complementaria.



Figura 10. Especies reconocidas para *Mammillaria* serie *Polyedrae*, así como localidades de procedencia: A) *M. beisei*, Islas Marias NAY. (JJB128), B) *M. carnea*, Ajalpan PUE. (DA241), C) y D) *M. erythra*, Acultzingo VER. (DA255). *M. karwinskiana*: E) Mitla OAX. (DA247) y F) Sta. Ana Tavela OAX (DA252). G) *M. knippeliana*, Cuernavaca MOR. (DA261). *M. mystax*: H) Tehuacán PUE. (DA225), I) Suchixtlahuaca OAX. (DA231) y J) Miltepec, OAX (DA238). *M. polyedra*: K) Ixtaltepec OAX. (DA38), L) Río del Oro, Oax. (DA234) y LI) El Papayo Pue. (DA239). M) *M. sartorii*, Jalcomulco VER. (DA245), N) *M. varieaculeata*, Calipán, PUE. (UG1091) y *M. voburnensis*: Ñ) La Mata OAX. (DA269), O) Río Negro GUATEMALA (MV19786) y P) Metapán EL SALVADOR (GC2591). Fotos D. Aquino y S. Arias

6.2 Relaciones filogenéticas de *Mammillaria* serie *Polyedrae*

Los análisis filogenéticos con caracteres morfológicos y moleculares encontraron de forma consistente que la serie *Polyedrae* es un grupo monofilético. Estos resultados concuerdan con aquellos de Butterworth y Wallace (2004) quienes utilizando *psbA-trnH* y *rpl16* reconocieron con un número limitado de terminales que *Polyedrae* es monofilética. El análisis filogenético con caracteres morfológicos permite reconocer que el clado *Polyedrae* (bts 58 / jck 57) se apoya en una sinapomorfía (la forma de la base del tubérculo) y por la combinación de tres homoplasias (ángulo ventral en el tubérculo, bordes de los tépalos externos ciliados y semilla con curvatura de las paredes anticlinales de la célula tipo omega). De los grupos propuestos por Reppenhagen (1992) se recuperó al grupo *Mammillaria karwinskiana*; sin embargo, el clado no tiene soporte de ramas mayor al 50%. La especie que se resuelve como hermana del clado *Polyedrae* es *M. carnea* caracterizada por la ausencia de cerdas.

El análisis filogenético con caracteres moleculares confirma la monofilia de la serie *Polyedrae* (bts 91 / jck 87, parsimonia; 1.0 PP, inferencia Bayesiana) recuperando relaciones de hermandad. El primer clado lo forma el grupo *Mammillaria mystax sensu* Reppenhagen (1992) comprende a las especies que presentan espinas radiales y centrales, así como flores rosadas y se define por una sinapomorfía en *trnQ-rps16*. Este clado fue consistente en ambos análisis (bts 63/ jck 50, parsimonia; 0.98 PP, inferencia Bayesiana) y confirma la relación de hermandad de *M. mystax* y *M. varieaculeata* (Hunt, 2006). El segundo clado corresponde al grupo *M. karwinskiana sensu* Reppenhagen (1992), en donde se agrupan las especies con flores amarillas. En la filogenia con caracteres moleculares difiere ligeramente. Mediante parsimonia se incluye a *M. carnea*, la cual tiene flores rosadas y el clado posee un soporte de ramas moderado (bts 92 / jck 87), en tanto que en la inferencia Bayesiana *M. carnea* se resuelve como la especie hermana del grupo *M. karwinskiana* (1.0 PP). No fue posible definir relaciones de hermandad al interior del clado. Las sinapomorfías que resolvieron a este clado son tres sustituciones en la posición 1261, 1950 y 2103, y se identificó una homoplasia en la posición 1889 en *rpl16*. El grupo *M. polyedra sensu* Reppenhagen (1992) no se recupera como monofilético. De acuerdo con Reppenhagen (1992) se agrupan las especies sin espinas radiales con flores rosadas. *M. polyedra* se resuelve como la especie hermana del clado *Polyedrae* tanto por parsimonia como inferencia Bayesiana.

Hunt (1977b) señaló la posible relación entre las series *Macrothelae* (= *Mammillaria*) y *Polyedrae*, por compartir la coloración marrón y las paredes celulares colapsadas de las semillas. Los análisis filogenéticos con caracteres morfológicos y moleculares no permiten conocer la relación de hermandad, resultando politomías con las series *Mammillaria* y *Leucocephalae*. Este resultado concuerda con los de Butterworth y Wallace (2004) quienes utilizaron *psbA-trnH* y *rpl16*, mismos que fueron analizados en este trabajo, con la variante de adicionar dos marcadores más: *trnQ-rps16* y *matK*. Se registró que las series *Polyedrae* + *Mammillaria* + *Leucocephalae* forman un grupo monofilético (bts=58 / jck=52, parsimonia; 0.98 PP, inferencia Bayesiana) y corresponde a la sección *Mammillaria*, lo cual es congruente con las propuestas de clasificación de Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991), Lüthy (1995) y Hunt (2006). Butterworth y Wallace (2004) recomiendan el uso de dos marcadores más: *ndhF* y *trnL-F* puesto que al ser marcadores de evolución más lenta proporcionan mayor resolución en los nodos más profundos, incluyendo un muestreo más amplio, tanto de la serie *Leucocephalae* como la serie *Mammillaria*, la cual agrupa al mayor número de especies.

La presente hipótesis filogenética no apoya la propuesta de Hunt (2006) de incluir *Mammillaria compressa* en la serie *Polyedrae*. El análisis filogenético con datos morfológicos revela que no comparte los caracteres de *Polyedrae*. Los tubérculos de *M. compressa* son de base tetragonal en individuos juveniles, pero su morfología cambia a circular en individuos maduros. En cambio los tubérculos de los miembros de la serie *Polyedrae*, se mantienen como tetragonales desde de juveniles a adultos. Otro carácter importante es el relieve de la semilla, Lüthy (1995) incluyó a *M. compressa* dentro de la serie *Mammillaria*, ya que al igual que *M. magnimamma* las paredes de las células anticlinales son del tipo U. De igual forma los marcadores moleculares apoyan la exclusión de *M. compressa*; en particular el análisis de inferencia Bayesiana permite proponer una hipótesis de hermandad de *M. compressa* con *M. magnimamma* como parte de la serie *Mammillaria*.

6.3 Distribución de *Mammillaria* serie *Polyedrae*

La serie *Polyedrae* se distribuye desde el oriente y occidente de México hasta Nicaragua. La principal barrera que limita su distribución al norte es la Faja Volcánica Transmexicana, la cual separa a *Polyedrae* de las series *Mammillaria* y *Leucocephalae*. Esta barrera ha sido importante en los procesos de especiación, Ferrusquía-Villafranca (2007) explica que

un evento de cambio climático en el Cenozoico provocó la movilidad de las especies de norte a sur. El surgimiento de la Faja Volcánica Transmexicana impidió nuevos desplazamientos, además de provocar la diversificación de los tipos de suelo y en conjunto con factores ambientales (altitud, latitud y efecto de continentalidad), ocasionaron la diversificación de la biota en ambos lados de la barrera. El límite de distribución sur corresponde a la Meseta de los Pueblos en Nicaragua, en conjunto con una cadena de volcanes originados en el Cuaternario y combinado con el aumento en el régimen de precipitación pluvial (Martínez-Sánchez, 1990), constituyen una barrera natural que no permite su dispersión hacia América del Sur.

A partir de la filogenia molecular (Figs. 5 y 6) hay dos clados dentro de *Polyedrae* resueltos, grupo *Mammillaria mystax* y *M. karwinskiana*. El grupo *M. mystax* se distribuye casi exclusivamente en el centro-sur del país, principalmente en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y la Sierra Madre Oriental. Los resultados de la filogenia apoyan la hermandad de *M. mystax* y *M. varieaculeata*, las cuales convergen en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, las especies hermanas de *M. mystax* y *M. varieaculeata* son *M. erythra* y *M. sartorii*, que están separadas por la Sierra Madre Oriental con respecto a sus especies hermanas, por lo que funge como barrera entre el Valle de Tehuacán-Cuicatlán de la Vertiente del Golfo (Valiente-Banuet *et al.*, 2000). El grupo *M. karwinskiana*, se distribuye a través de la Depresión del Río Balsas, el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y en la vertiente del Pacífico, por lo que la Sierra Madre del Sur en conjunto con las serranías de Centroamérica han fungido como corredores biológicos, que también ocasionaron eventos de especiación, como en el caso de las especies endémicas *M. beisei* en la cuenca baja del Balsas y la vertiente del Pacífico y *M. knippeliana* en la cuenca alta del Balsas. La disminución en cuanto a riqueza de especies ocurre en el sentido norte-sur, hacia los Valles Centrales de Oaxaca se distribuye solo *M. karwinskiana* y a partir del Istmo de Tehuantepec solo se distribuye *M. voburnensis* por la región mesoamericana hasta Nicaragua.

En el Valle de Tehuacán-Cuicatlán convergen cinco especies y dos son endémicas (*Mammillaria carnea* y *M. varieaculeata*). En esta área probablemente hayan ocurrido eventos de hibridación/introgresión, como en el caso de *M. polyedra*, ya que de acuerdo con los resultados de la delimitación con marcadores moleculares, dos de las terminales se agregan con *M. mystax* y *M. carnea*.

7. CONCLUSIONES

Con base en dos métodos comparativos, uno multivariado a partir 19 caracteres morfológicos mediante análisis discriminante y clasificatorio, más otro molecular a partir de cuatro marcadores de cloroplasto (*matK*, *psbA-trnH*, *rpl16* y *trnQ-rps16*) se concluye que la serie *Polyedrae* está integrada por diez especies: *Mammillaria beiselii*, *M. carnea*, *M. erythra*, *M. karwinskiana*, *M. knippeliana*, *M. mystax*, *M. polyedra*, *M. sartorii*, *M. varieaculeata* y *M. voburnensis*. De ese conjunto de especies, *M. beiselii*, *M. mystax*, *M. sartorii* y *M. varieaculeata* pueden ser reconocidas a través de los dos métodos comparativos, esto significa que cada una de estas especies tienen una combinación particular de caracteres morfológicos más moleculares. *Mammillaria erythra* sólo se reconoce como una entidad independiente mediante el análisis molecular, pero a través del análisis multivariado sólo se discrimina y clasifica como parte de *M. mystax*, por lo que aquí es considerada una especie críptica. *Mammillaria carnea*, *M. karwinskiana*, *M. knippeliana* y *M. voburnensis* son reconocidas sólo mediante atributos morfológicos mediante el análisis multivariado; para estas especies no se presentó suficiente variación molecular en los marcadores utilizados. El análisis multivariado permite discriminar a *M. karwinskiana* y *M. voburnensis*, por lo tanto en la presente tesis se reconocen como especies diferentes, a diferencia de la propuesta de Hunt (2012). Por otra parte, las terminales estudiadas de *Mammillaria polyedra* se reconocen como una especie mediante el análisis multivariado, pero el análisis molecular no reconoce a las terminales en un grupo monofilético.

Con base en la filogenia empleando de forma independiente una matriz de 35 caracteres morfológicos y otra matriz con 2727 pb con los marcadores moleculares antes señalados, se concluye que la serie *Polyedrae* es un grupo monofilético, lo cual apoya la hipótesis de Butterworth y Wallace (2004). Los caracteres morfológicos que soportan su monofilia es una sinapomorfía (base tetragonal del tubérculo), se identificaron tres homoplasias (ángulo ventral en el tubérculo, margen de los tépalos externos ciliados y semilla con curvatura de las paredes anticlinales de la célula tipo omega); así como cinco sinapomorfías ubicadas en *rpl16*. La serie *Polyedrae* está integrada por diez especies ubicadas en dos clados, uno de ellos representa el grupo *Mammillaria karwinskiana*, el cual es congruente con la propuesta taxonómica de Reppenhagen (1992); otro clado lo integran los grupos *M. mystax* + *M. polyedrae*. Las series *Polyedrae* + *Mammillaria* + *Leucocephalae* forman la sección *Mammillaria*, la cual se resuelve como grupo monofilético.

Los dos análisis filogenéticos (morfológico y molecular) no apoyan la propuesta de Hunt (2006) de incluir a *Mammillaria compressa* en la serie *Polyedrae*. Solo la filogenia mediante inferencia Bayesiana recupera a *M. compressa* como parte de la serie *Mammillaria*, como había sido propuesto por Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1992) y Lüthy (1995).

Con base en los registros de 12 herbarios, la base de datos electrónica de CONABIO y de colectas realizadas en este proyecto se concluye que la Faja Volcánica Transmexicana limita la serie *Polyedrae* al norte, separándola de las series *Mammillaria* y *Leucocephalae*, ya que *Polyedrae* se distribuye al sur y occidente mientras que las otras series se encuentran principalmente en el Altiplano Central. Las estribaciones de las principales cadenas montañosas del sur y occidente de México, junto con su continuación en Centroamérica han jugado un papel importante en los procesos de diversificación de las especies de la serie *Polyedrae*.

8. REFERENCIAS

- Anderson, E. F. 2001. The cactus family. Timber Press. Portland.
- Arakaki, M., C. Pascal-Antoine, R. Nyffeler, A. Lendel, U. Eggli y M. Ogburn. 2011. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *P. Natl. Acad. Sci. USA*. **108**: 8379-8384.
- Arias, S. 1997. Distribución, grupos taxonómicos y formas de vida. Distribución general. En: Zavala-Hurtado J. (ed.) *Cactáceas, suculentas mexicanas*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, CVS Publicaciones, México DF. pp. 17-25.
- Arias, S., S. Gama, U. Guzmán. 1997. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 14. *Cactaceae* A. L. Juss. Instituto de Biología, UNAM, CONABIO, México DF.
- Arias, S. U. Guzmán, M. C. Mandujano, M. Soto y J. Golubov. 2005. Las especies mexicanas de cactáceas en riesgo de extinción I. Una comparación entre los listados NOM-059-ECOL-2001 (México), la Lista Roja (UICN) y CITES. *Cact. Suc. Mex.* **50**: 100-125.
- Arroyo-Cosultchi, G., T. Terrazas, S. Arias y L. López-Mata. 2010. Delimitación de *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *N. multiareolata* (Cactaceae) con base en análisis multivariados. *Bol. Soc. Bot. Méx.* **86**: 53-64.
- Baena-González, E., S. Baginsky, P. Mulo, H. Summer, E. Aro, G. Link. 2001. Chloroplast transcription at different light intensities. Glutathione-mediated phosphorylation of the major RNA polymerase involved in redox-regulated organellar gene expression. *Plant Physiol.* **127**: 1044-1052.
- Baker, M. A. y R. A. Johnson. 2000. Morphometric analysis of *Escobaria sneedii* var. *sneedii*, *E. sneedii* var. *leei* and *E. guadalupensis* (Cactaceae). *Syst. Bot.* **25**: 577-587.
- Baker, M. A. y C. A. Butterworth. 2013. Geographic distribution and taxonomic circumscription of populations within *Coryphantha* section *Robustispina* (Cactaceae). *Am. J. Bot.* **100**: 984-997.
- Bárcenas, R. T., C. Yesson, J. A. Hawkins. 2011. Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics* **27**: 470-489.
- Barthet, M. M. y K. W. Hilu. 2007. Expression of *matK*: Functional and evolutionary implications. *Am. J. Bot.* **94**: 1402-1412.
- Barthlott, W y D. Hunt. 2000. Seed diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae. *Succulent Plant Research* **5**: 6-173.

- Bickford, D., D. J. Lohman, N. S. Shodi, P. Ng, R. Meier, K. Winker, K. K. Ingram y I. Dras. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.* **22**: 148-155.
- Boke, N. H. 1976. Dichotomous branching in *Mammillaria* (Cactaceae). *Am. J. Bot.* **63**: 1380-1384.
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las Cactáceas de México. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. México DF.
- Bravo-Hollis, H. y H. Sánchez-Mejorada. 1991. Las Cactáceas de México. Vol. III. Universidad Nacional Autónoma de México. México DF.
- Britton, N. L. y J. N. Rose. 1923. The Cactaceae. Vol. IV. The Carnegie Institution. Washington DC.
- Buchenau, F. G. 1966. *Mammillaria varieaculeata* spec. nov. *Cact. Suc. Méx.* **11**: 79-81.
- Butterworth, C. A., H. Cota-Sanchez y R. S. Wallace. 2002. Molecular systematics of tribe Cactaeae (Cactaceae: Cactoideae): a phylogeny based on *rpl16* intron sequence variation. *Syst. Bot.* **27**: 257-270.
- Butterworth, C. A. y R. S. Wallace. 2004. Phylogenetic studies of *Mammillaria* (Cactaceae) insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap. *Am. J. Bot.* **91**: 1086-1098.
- Buxbaum, F. 1950. Polyphyletic origin of the genus *Mammillaria*. *Cact. Succ. J. G. B.* **12**: 76-78.
- Campagna, M. L. y S. R. Downie. 1998. The intron in chloroplast gene *rpl16* is missing from the flowering plant families Geraniaceae, Goodeniaceae and Plumbaginaceae. *Transactions of the Illinois State Academy of Science* **91**: 1-11.
- Carl Zeiss Imaging Solution GmbH. 2009. AxioVision Rel 4.8. Thornwood. URL: <http://www.zeiss.com/>
- CBOL Plant Working Group (2009). A DNA barcode for land plants. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **106**: 12794-12797.
- CBOL Consortium for the Barcode of Life. 2013. Barcode of life. URL: www.barcodeoflife.org.
- Chamberland, M. 1997. Systematics of the *Echinocactus polycephalus* complex (Cactaceae). *Syst. Bot.* **22**: 303-313.
- Cuenoud, P., V. Savolainen, L. W. Chatrou, P. Martyn, R. J. Grayer, y M. W. Chase. 2002. Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rRNA and plastid *rbcL*, *atpβ*, and *matK* DNA sequences. *Am. J. Bot.* **89**: 132-144.

- Darriba D., G. L. Taboada, R. Doallo y D. Posada. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristic and parallel computing. *Nat. Methods* **9**: 772.
- DeSalle, R., M. G. Egan y M. Siddall. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Phil. Trans. R. Soc. B.* **360**: 1905–1916.
- Dirzo, R. y P. H. Raven. 1994. Un inventario biológico para México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* **55**: 29-34.
- Dong, W., J. Liu, J. Yu, L. Wang y S. Zhou. 2012. Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *PLoS One.* **7**: 1-9.
- Duminil J. y M. D. Michele. 2009. Plant species delimitation: A comparison of morphological and molecular markers. *Plant Biosyst.* **143**: 1-15.
- Environmental Scientific Research Institute. 2010. Arc Map Ver. 10. Redlands CA.
- Fazekas, A. J., P. R. Kesanakurti, K. S. Burgess, D. M. Percy, S. W. Graham, S. C. H. Barrett, S. G. Newmaster, M. Hagibabaeis y B. C. Husband. 2009. Are plant species inherently harder to discriminate than animal species using DNA barcoding markers? *Mol. Ecol. Res.* **9**:130–139.
- Ferrusquía-Villafranca, I. 2007. Ensayo sobre la caracterización y significación biológica. En: Luna-Vega, I., J. Morrone, D. Espinosa. (eds.) Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF. pp. 7-23.
- Fitz-Maurice, W. A. y B. Fitz-Maurice. 2009. *Stylothelae* dilemmas, old and new. *J. Cact. Succ. Soc. Amer.* **81**: 210-213.
- Franck, A. R., B. J. Cochrane y J. R. Garey. 2012. Low-copy nuclear primers and *ycf1* primers in Cactaceae. *Am. J. Bot.* **99**: e405-e407.
- Funk, D. J. y K. E. Omland. 2003. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **34**: 397-423.
- Gene Codes Corp. 2007. Sequencher 4.8. Ann Arbor Michigan.
- Gibson, A. C. y P. S. Nobel. 1986. The cactus primer. Harvard University Press. Cambridge.
- Global Biodiversity Information Facility. Free and open access to biodiversity data. Fecha de consulta 2013. URL. <http://www.gbif.org/>
- González, E. G. 2003. Microsatélites: sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad. *Graellsia* **59**: 377-388.

- Gorelick, R. 2002. DNA sequences and cactus classification – a short review. *Bradleya* **20**: 1-4.
- Google Inc. 2011. Google Earth 6.1.0.5001. Mountain View CA. URL: <http://www.google.es/intl/es/earth/index.html>.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad, México DF.
- Guzmán, U. 2009. Cactáceas mexicanas. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México DF.
- Harpke, D. y A. Peterson. 2006. Non-concerted ITS evolution in *Mammillaria* (Cactaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **41**: 579-593.
- Haworth, A. H. 1812. Synopsis plantearum succulentarum. Richard Taylor, London.
- Helsen, P., R. A. Browne, D. J. Anderson, P. Verdyck y S. Van Dongen. 2009. Galapagos *Opuntia* (prickly pear) cacti: extensive morphological diversity, low genetic variability. *Biol. J. Linn. Soc.* **96**: 451-461.
- Hernández-Hernández, T., H. M. Hernández, J. A. De-Nova, R. Puente, L. E. Eguiarte y S. Magallón. 2011. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *Am. J. Bot.* **98**: 44.61.
- Holder M. y P. O. Lewis. 2003. Phylogeny estimation: traditional and bayesian approaches. *Nat. Rev. Genet.* **4**: 275-284.
- Majure L. C., R. Puente, M. P. Griffith, W. S. Judd, A. S. Soltis, y D. E. Soltis. 2012. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *Am. J. Bot.* **99**: 847.864.
- Hillis, D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **18**: 23-42.
- Holmgren, P. K., N. H. Holmgren, y L. C. Barnett. 1990. Index herbariorum, part 1: the herbaria of the world. 80th ed. New York Botanical Garden, Bronx.
- Huelsenbeck, J.P. y F. Ronquist. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* **17**: 754–755.
- Hunt, D. R. 1971. Schumann and Buxbaum reconciled. *Cact. Succ. J. Gt. Brit.* **33**: 53-72.
- Hunt, D. R. 1976. Observaciones sobre *Mammillaria rhodantha* y especies aliadas II. *Cact. Suc. Méx.* **21**: 3-10.
- Hunt, D. R. 1977a. Schumann & Buxbaum Recompiled [3]. *Cact. Succ. J. Gt. Brit.* **39**: 97-100.

- Hunt, D. R. 1977b. The classification of *Mammillaria*. *Nat. Cact. Succ. J.* **32**: 75-81.
- Hunt, D. R. 1987. A new review of *Mammillaria* names. British Cactus and Succulent Society, Oxford.
- Hunt, D. R. 2006. The new cactus lexicon, text and atlas. DH Books. The Manse Chapel Lane Milbourne Port.
- Hunt, D. R. 2012. A brief outline of the cacti of Nicaragua. *Cact. Consensus Initiat.* **26**: 21-29.
- Kekwick, R. G. 2001. Encyclopedia of life sciences. John Wiley & Sons. London.
- Korotkova, N., L. Zabel, D. Quandt y W. Barthlott. 2010. A phylogenetic analysis of *Pfeiffera* and the reinstatement of *Lymanbensonia* as an independently evolved lineage of epiphytic Cactaceae within a new tribe Lymanbensonieae. *Willdenowia* **40**: 151-172.
- Korotkova, N., T. Borsch, D. Quandt, N. P. Taylor, K. F. Müller y W. Barthlott. 2011. What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? an example from the epiphytic Rhipalideae (Cactaceae). *Am. J. Bot.* **98**: 1549-1572.
- Kress, W. J. y D. L. Erickson. 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the noncoding *trnH-psbA* spacer region. *Plos One* **2**: e508.
- Lüthy, J. M. 1995. Taxonomische untersuchung der gattung *Mammillaria* Haw. Ph.D. dissertation, Universität Bern, Bern.
- Maddison, W. P. y D. R. Maddison 2002. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, ver. 2.75. University of Arizona, Tucson. <http://mesquiteproject.org>.
- Manly, B. F. 1986. Multivariate statistical methods. Chapman & Hall. London.
- Martínez-Sánchez, J. C. 1990. Biodiversidad en Nicaragua: estado actual de conocimiento sobre la fauna vertebrada. Universidad de Washington, Seattle.
- Martius, V. 1832. Beschreibung einiger neuen *Nopaleen*. *Nova Acta Phys.-Med. Acad. Caes. Leop.-Carol. Nat. Cur.* **16**: 324-362.
- Mendenhall W., R. J. Beaver y B. M. Beaver. 2010. Introducción a la probabilidad y estadística. Cengage Laerning. México DF.
- Moreno, N. P. 1984. Glosario botánico ilustrado. CECSA. México DF.
- Morrone, J. J. 2013. Sistemática. Fundamentos, métodos, aplicaciones. Universidad Nacional Autónoma de México. México DF.
- Mottram, R. 1993. Proposal to change the conserved type of Cactaceae, nom. cons., and the entries of the conserved names *Mammillaria* and *Melocactus*. *Taxon* **42**: 457-464.

- Novoa, L. P. 2008. Contribución al estudio taxonómico de: *Mammillaria supertexta* Mart. ex Pfeiff. y *M. dixanthocentron* Backeb. ex Mottram de la serie *Supertextae* (Cactaceae). Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF.
- Nyffeler, R. 2002. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *trnK/matK* and *trnL-trnF* sequences. *Am. J. Bot.* **89**: 312-326.
- Ortíz, M. A., J. R. Hernández y J. M. Mah-Eng. 2004. Reconocimiento fisiográfico y geomorfológico. En A. J. García-Mendoza, M. J. Ordoñez y M. Briones-Salas (eds.). Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología, UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Found. México. pp.43-54.
- Packer, L., J. Gibbs, C. Sheffield y R. Hanner. 2009. DNA Barcoding and the mediocrity of morphology. *Mol. Ecol. Resour.* **9**: 42-50.
- Paz, A., M. González y A. Crawford. 2011. Códigos de barras de la vida: introducción y perspectivas. *Acta Biol. Colomb.* **16**: 161-176.
- Petit, R. J. y L. Excoffier. 2009. Gene flow and species delimitation. *Trends Ecol. Evol.* **24**: 386-393.
- Pfeiffer, L. 1837. Enumeratio diagnostica cactearum hucusque cognitarum. Sumtibus L. Oehmigke, Berlin.
- Pilbeam, J. 1999. *Mammillaria*. Cirio Publishing Services Ltd. Southampton.
- Plume, O., S. C. K. Straub, N. Tel-Zur, A. Cisneros, B. Schneider y J. J. Doyle. 2013. Testing a hypothesis of intergeneric allopolyploidy in vine cacti (Cactaceae: Hylocereeae). *Syst. Bot.* **38**: 737-751.
- Purpus J. A. 1911. *Mammillaria sartorii*, J. A. Purpus spec. nov. *Monatsschr. Kaktensk.* **22**: 50-53.
- Quehl, V. L. 1907. *Mammillaria knippeliana* n. sp. *Monatsschr. Kaktensk.* **17**: 59-60.
- Rambaut, A. 2013. Tracer v. 1.5. Molecular evolution, phylogenetics and epidemiology. Edinburgo URL: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>
- Reppenhagen, W. 1988. Die gattung *Mammillaria* nach dem heutigen stand meines wissens, 1987. Arbeitskreis für Mammillarienfreunde e. V. Viena.
- Reppenhagen, W. 1992. Die gattung *Mammillaria* monographie. Band 2. Druckerie Steinhart, Germany.
- Ritz, C. M., L. Martins, R. Mecklenburg, V. Goremykin y F. H. Hellwig. 2007. The molecular phylogeny of *Rebutia* (Cactaceae) and its allies demonstrates the influence of

- paleogeography on the evolution of South American mountain cacti. *Am. J. Bot.* **94**: 1321-1336.
- Roberts, E. 2011. *Mammillaria lasiacantha* or not? *J. Cact. Succ. Soc. Amer.* **83**: 100-106.
- Rzedowski, J. 1991. La vegetación de México. Versión digital, CONABIO. México DF.
- Sánchez-Mejorada, H. 1982. Consideraciones generales sobre la clasificación de las cactáceas. *Cact. Suc. Méx.* **27**: 3-9.
- Sánchez, C. D. 2010. Sistemática filogenética de *Echinocereus* sección *Triglochidiati* (Cactaceae). Tesis de Maestría en Ciencias, Instituto de Biología, UNAM, México DF.
- Sánchez, C., S. Arias y T. Terrazas. 2013. Análisis morfométrico de las especies de *Echinocereus* sección *Triglochidiati* (Cactaceae) en México. *Brittonia* **65**: 368-385.
- Santini, B. A y C. Martorell. 2013. Does retained-seed priming drive the evolution of serotiny in drylands? An assessment using the cactus *Mammillaria hernandezii*. *Am. J. Bot.* **100**: 365-373.
- Scheinvar, L. 2004. Flora cactológica del estado de Querétaro. Fondo de Cultura Económica, México DF.
- Schlick-Steiner, B. C., B. Seifert, C. Stauffer, E. Christian, R. Crozier y F. M. Steine. 2007. Without morphology, cryptic species stay in taxonomic crypsis following discovery. *Trends Ecol. Evol.* **22**: 391-392.
- Schumann, K. 1898. Gesamtbeschreibung der kakteen (monographia cactearum). Verlag von J. Neumann. Neudamm.
- StatPoint Technologies, Inc. 2010. STATGRAPHICS Centurion XVI. Warrenton.
- Stöver, B. y K. Müller. 2010. TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. *BMC Bioinformatics* **11**: 7.
- Swofford D. L. 2001. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods) Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland.
- Ueda, M., T. Nishikawa, M. Fujimoto, H. Takanashi, S. Arimura, N. Tsutsumi y K. Kadowaki (2008). Substitution of the gene for chloroplast *rps16* was assisted by generation of a dual targeting signal. *Mol. Biol. Evol.* **25**:1566–1575.
- Valiente-Banuet, A., A. Casas, A. Alcántara, P. Dávila, N. Flores-Hernández, M. Arizmendi, J. L. Villaseñor y J. Ortega. 2000. La vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. México.* **67**: 24-74.
- Vázquez-Sánchez, M., T. Terrazas y S. Arias. 2012. El hábito y la forma de crecimiento en la tribu Cacteeae (Cactaceae, Cactoideae). *Bot. Sci.* **90**: 97-108.

- Vázquez-Sánchez, M., T. Terrazas, S. Arias y H. Ochoterena. 2013. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteae (Cactaceae). *Syst. Biodivers.* **11**: 103 - 116.
- Wiens, J. J. 2007. Species delimitation: new approaches for discovering diversity. *Syst. Biol.* **56**: 875-878.
- Will, K. W. y D. Rubinoff. 2004. Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. *Cladistics* **20**: 47-55.
- Yesson, C., R. T. Bárcenas, H. M. Hernández, M. Ruiz-Maqueda, A. Prado, V. M. Rodríguez y J. A. Hawkins. 2011. DNA barcodes for mexican Cactaceae, plants under pressure from wild collecting. *Mol. Ecol. Resour.* **11**: 775-783.

**Apéndice 1. Especies reconocidas en el presente trabajo para *Mammillaria* serie
*Polyedrae***

Mammillaria beiselii L. Diers. Kakteen. and Sukk. 30: 60. 1979. *Mammillaria karwinskiana* Mart. subsp. *beiselii* (L. Diers) D. R. Hunt. *Mammillaria* Postscripts 6: 11. 1997. TIPO: MÉXICO. Grenzgebiet Colima/Michoacán, in Küstennähe, *Beisel & Krasuka 100*, 25 abril 1978 (holotipo: KOELN).

Mammillaria tropica Repp. Die Gattung Mammill. nach dem Heutigen Stand Meines Wissens 171. 1987. TIPO: MÉXICO. Jalisco, Tomatlán, *W. Reppenhagen 677*, 28 sep. 1972 (holotipo: ZSS).

Mammillaria nagliana Repp. Die Gattung Mammill. nach dem Heutigen Stand Meines Wissens 173. 1987. TIPO: MÉXICO. Michoacán, Aguililla, *W. Reppenhagen 1045*, 4 mar. 1975 (holotipo: ZSS).

Ejemplares examinados: JALISCO. Mpio.: Cabo Corrientes: El Tuito, Caleta Tehumixtle, *H. Arreola-Nava 1197*, 30 mayo 1990 (IBUG). Mpio.: La Huerta, Cuenca Uno, Estación Biológica Chamela. *E. J. Lott 1090*, 29 mayo 1982 (MEXU); Cuenca Uno, Estación Biológica Chamela. *S. H. Bullock 1172*, 11 jun. 1982 (MEXU); 57 km NW de la Estación Biológica de Chamela, sobre la carretera a Puerto Vallarta. *C. Gomez-Hinostrosa 1989*, 09 jul. 2001 (MEXU). Mpio.: Tomatlán: Estero del Carrizo, km 111 carretera Barra de Navidad - Puerto Vallarta, *H. Arreola-Nava 1193* (IBUG). **MICHOACÁN.** Mpio.: Nueva Italia, cerca de Nueva Italia *F. G. Buchenau s. n. s. f.* (MEXU). Mpio.: Aguila. Km 4, carretera La Placita-Tecomán *C. B. Guerrero 558*. 09 dic. 1979 (XAL); Km 4, carretera La Placita-Tecomán *C. B. Guerrero 801*, 05 abril 1980 (XAL); *Aguila N. P. Taylor y U. Guzmán 297*, 01 jul. 1986 (MEXU). **NAYARIT.** Mpio.: San Blas: Isla María Madre, aproximadamente 1 km al NW de Puerto Balleto, *J. J. Blancas-Vázquez s.n.* abril 2008 (MEXU); Islas Marías, Bajada del campamento Laguna del Toro-Papelillo, *J. J. Blancas-Vázquez 128*. 11 octubre 2008 (MEXU).

Mammillaria carnea Zucc. ex Pfeiff., Enum. Diagn. Cact. 19. 1837. *Cactus carneus* (Zucc. ex Pfeiff.) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 1: 260. 1891. *Neomammillaria carnea* (Zucc. ex Pfeiff.) Britton & Rose, Cactaceae. 4: 88. 1923. TIPO: MÉXICO. Puebla: Tehuacán, cerro Tecaxtil, *L. Scheinvar et al.* 2007, mar. 1987 (neotipo: MEXU! designado por Scheinvar y Olalde-Parra, 2008).

Mammillaria carnea Zucc. ex Pfeiff. var. *robustispina* R. T. Craig, *Mammillaria* Handb. 45. 1945. TIPO: MEXICO. Lámina de *Mammillaria carnea* var. *robustispina* en *Mammillaria* Handb. 44, fig. 27. 1945. (lectotipo designado por Arias *et al.* 2012).

Ejemplares examinados: OAXACA, DTO. Cuicatlán. Mpio.: Concepción Pápalo. Paraje Rancho Grande, 11 Km de San Juan Bautista Cuicatlán a Concepción Pápalo. *S. Arias et al.* 857, 05 ago. 1990 (MEXU). Mpio.: San Juan Bautista Cuicatlán. Valerio Trujano, a 2.5 km del entronque de la carretera de terracería, hacia cañon de Tomellín. *J. I. Calzada* 23879, 24 mar. 2003 (REMIB); 11 km, camino a Valerio Trujano. *E. M. Martínez-Salas* 33508, 9 ene. 2001 (REMIB); Terracería a San Francisco Tutepetongo. *C. Cruz-Espinosa* 434, 15 abril 2002 (REMIB); 1.5 Km en línea recta S de Santiago Domingullo, sobre la carretera Oaxaca-Cuicatlán. *G. Juárez-García et al.* 724, 06 nov. 2004 (MEXU); 200 m de la Torre 293, línea eléctrica Temascal-Oaxaca-Potencia, Santiago Domingullo. *C. Cruz-Espinosa* 2038b, 15 dic. 2004 (MEXU). Mpio.: Valerio Trujano. Línea eléctrica Temascal-Oaxaca-Potencia, Valerio Trujano. *C. Cruz-Espinosa* 2060, 16 dic. 2004 (MEXU). DTO. Teotitlán. Mpio. San Antonio Nanahuatipam. 2 km S de San Antonio Nanahautípam. *U. Guzmán et al.* 788, 09 ago. 1990 (MEXU); Mpio. San Juan de los Cués. 1 km NE de San Juan de los Cués. *S. Arias* 948 *et al.* 948, 21 sep. 1991 (MEXU); 1 km NE de San Juan de los Cués. *U. Guzmán et al.* 1045, 10 ene. 1994 (MEXU). **PUEBLA**. Mpio.: Ajalpan: Cerro Tecachil. *L. Scheinvar* 2997a, mar. 1982 (MEXU); 6 km sobre la desviación de Ajalpan rumbo a San Luis del Pino. *D. Aquino et al.* 241, 28 oct. 2011 (MEXU). Mpio.: Coxcatlán. Coxcatlán, 800 m carretera Tehuacán-Teotitlán de Flores Magón. *W. L. Boege* 2187, 30 abril 1972 (MEXU); Pueblo Nuevo [Guadalupe Victoria]. *M. Gordillo s. n.* 01 mar. 1982 (MEXU); Límite estatal Puebla y Oaxaca. *L. Scheinvar* 4738c, 22 nov. 1986 (MEXU); Calipan. *L. A. Scheinvar et al.* 5725, 31 ago. 1991 (MEXU); Desviación a San José Axusco, carretera Tehuacán-Teotitlán de Flores Magón *U. Guzmán et al.* 851, 30 mayo 1991 (MEXU); 1 km W de Calipan. *S. Arias et al.* 931, 01 jun. 1991 (MEXU); Barranca Los Mangos, 2 Km NE de Calipan. *A. Salinas* 7120, 17 feb. 1993 (MEXU); San José Tilapa, 3.7 km, por la carretera de Coxcatlán hacia Teotitlán de Flores Magón. *J. I. Calzada* 22921, 18 feb. 2001 (REMIB); Cueva del Maíz, sobre el arroyo. *H. Cervantes y M. López* 27, 19 feb. 2009 (MEXU). Mpio. San José Miahuatlán. Cerro Petlanco, 9 Km S de San José Axusco. *S. Arias et al.* 904, 25 nov. 1990 (MEXU). Mpio.: Tehuacán. Cerca de Tehuacán. *J. N. Rose* 9997, 1905 (REMIB); S de la Ciudad de Tehuacán. *H. Bravo-Hollis s. n. s. f.* (MEXU); San Lorenzo. *L. Scheinvar et al.* 2294. 23 mar. 1978 (MEXU). Magdalena Cuayucatepec. *M.*

Castañeda s. n. 15 mayo 2007 (XALU). Mpio.: Tepanco de López. NW de San Luis Temalacayuca. *S. Arias y U. Guzmán 1056*, 01 mar. 1993 (MEXU). Mpio.: Zapotitlán Salinas. entre Tehuacán y Zapotitlán Salinas. *H. Bravo-Hollis s. n.* jun. 1961 (MEXU); Tehuacan and Huajuapán between, km 30 from Tehuacan, beyond Zapotitlán de las Salinas, Puebla. *D. R. Hunt 7304*, 14 ago. 1969 (K); Valle de Zapotitlán Salinas, cerca de la carretera Zapotitlán Salinas-Santiago Chazumba. *J. M. Gallardo 30*, 07 mar. 1979 (XAL); Zapotitlán Salinas *L. Scheinvar et al. 2444*, 19 oct. 1979 (MEXU); Desviación de San Juan Raya a San Nicolás Tepoxtitlán. *L. Scheinvar 5308*, 10 mar. 1988 (MEXU); San Juan Raya. *E. Ramírez & S. Arias s. n.* 22 ago. 1984 (MEXU); Santa Ana Teloxtoc. *L. Scheinvar et al. 5972b*, 07 mayo 1993 (MEXU); detrás del Jardín Botánico. *M. Paredes 92*, 19 mayo 1998 (REMIB); Valle de Zapotitlán Salinas, cerca de la carretera Zapotitlán Salinas-Santiago Chazumba. *T. Hernández-Hernández y J. Barba 25*, 08 ago. 2006 (MEXU); Terracería entre Los Reyes Metzontla y San Luis Atolotitlán. *T. Hernández-Hernández y J. Barba 32*, 08 ago. 2006 (MEXU). Mpio. Zinacantepec. 1 km N de San Sebastián Zinacatepec. *U. Guzmán et al. 761*, 12 jul. 1990 (MEXU).

Mammillaria erythra Repp. Gattung Mammill. nach dem Heutigen Stand Meines Wissens 180. 1987. TIPO: MÉXICO: Grenzpas Puebla-Veracruz, Puerto del Aire, *W. Reppenhagen 1350*. 10 feb. 1978 (Holotipo: ZSS).

Ejemplares examinados: VERACRUZ, Mpio. Acultzingo: 2.5 km sobre la carretera de Acultzingo a Nogales, *D. Aquino et al 255*, 30 jul. 2012 (MEXU). Mpio. Orizaba. Orizaba. *H. Bravo-Hollis s. n. s. f.* (MEXU);

Mammillaria karwinskiana Mart., Nova Acta Phys.-Med. Acad. Caes. Leop. Carol. Nat. Cur. 16(1): 335. pl. 22. 1832. *Cactus karwinskianus* (Mart.) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 1: 260. 1891. *Neomammillaria karwinskiana* (Mart.) Britton & Rose, Cactaceae 4: 95. 1923. TIPO: MÉXICO. Sin localidad. *W. F. Karwinski s. n. s. f.* (Lectotipo: figura de *Mammillaria karwinskiana* en Nova Acta Phys. Med. Acad. Caes. Leop. Carol. Nat. Cur. 16 (1): 335. pl. 22. 1832 designado por Hunt, 1984).

Neomammillaria confusa Britton & Rose, Cactaceae 4: 103. 1923. *Mammillaria confusa* (Britton & Rose) Orcutt, Cactography 7. 1926. *Mammillaria pyrrhocephala* Scheidw. var. *confusa* (Britton & Rose) Borg, Cacti 354. 1937. Cultivada: near Berlin, not known in the wild state, *W. Mundt s.n.*, en 1912 (holotipo: US!).

Neomammillaria konzattii Britton & Rose, Cactaceae 4: 103. 1923. *Mammillaria konzattii* (Britton & Rose) Orcutt, Cactography 7. 1926. *Mammillaria confusa* (Britton & Rose) Orcutt var. *konzattii* (Britton & Rose) R.T.Craig, Mammillaria Handb. 24. 1945. TIPO: MÉXICO. Oaxaca: Cerro San Felipe, *C. Konzatti 4140*, 1907 (holotipo: US!).

Mammillaria karwinskiana Mart. subsp. *nejapensis* (R. T. Craig & E. Y. Dawson) D. R. Hunt. *Mammillaria* Postscripts 6: 11 (1997). *Mammillaria nejapensis* R. T. Craig & E. Y. Dawson. Allan Hancock Found. Publ. Occas. Pap. 2: 57. 1948. TIPO: MÉXICO. Oaxaca: northwest of Nejapa, near Río Totolapan. E. Y. Dawson 4556 s. f. (Holotipo: AHFH).

Ejemplares examinados: OAXACA: DTO. Centro, Mpio.: Oaxaca de Juárez. San Felipe del Agua. *C. Konzatti 1407*, s. f. (ENCB foto). DTO. Ejutla, Mpio.: Heroica Ciudad de Ejutla de Crespo. Entre Ejutla y San Juan Progreso. *L. Scheinvar et al. 5291*, 09 mar. 1988 (MEXU). DTO: Ixtlán. Mpio.: Santa Catarina Ixtepeji. El Estudiante, 10 km al N de Oaxaca. *A. García-Mendoza 615*, 29 jul. 1981 (MEXU, OAX). DTO.: Nochixtlán, Mpio. Magdalena Jaltepec, km 6.4 sobre la carretera a Jaltepec, *D. Aquino & S. Arias 135*, 21 jun. 2007, (MEXU, FEZA); Mpio. San Andrés Nuxiño, 6.6 km sobre la terracería a Nuxiño, contados a partir de Monte Frío, *D. Aquino & S. Arias 179*, 21 jun. 2007 (MEXU); Mpio. Santa Inés de Zaragoza, 23.1 km sobre la terracería Santa Inés-Tamazola contados a partir de Monte Frío, *D. Aquino & S. Arias 186*, 21 jun. 2007 (MEXU); Mpio. Santo Domingo Nuxaa, 10.8 km sobre la brecha Nuxaa-Santa Inés, *D. Aquino & S. Arias 182*, 21 jun. 2007 (MEXU). DTO. Ocotlán. Mpio.: San Jerónimo Taviche. Piedra Blanca. *R. Hernández 160*, 09 oct. 2005 (MEXU); Mpio.: San Pedro Apostol. Cerro de los Garabatos. *C. Chávez s. n. 22* sep. 2004 (REMIB); Mpio.: Santo Tomás Jalieza. Piedra Blanca, 1 km al N del tanque de carpas. *C. Cruz-Espinosa 2948*, 11 mar. 2006 (MEXU). DTO: Tlacolula. Mpio.: Santiago Matatlán. Cerro S de las ruinas de Dainzú. *A. García-Mendoza 2868*, 29 nov. 1986 (MEXU). Mpio.: San Pablo Villa de Mitla: Mitla. *H. Bravo-Hollis s. n.*, 1966 (MEXU); Mitla. Cerca de la Cueva Guila Nacquitiz. *C. E. Smiths 4341*, 05 ago. 1966 (MEXU); Mitla. *L. Scheinvar 5503*, 28 en. 1989 (MEXU); Entronque a la carretera a Mitla. *S. Arias & U. Guzmán 1157b*, 02 mayo 1994 (MEXU); 8.7 km al oeste de Mitla, *D. Aquino et al 247*, 15 marzo 2012 (MEXU). Mpio.: San Pedro Totolapan. Km 675, carretera Cristóbal Colón. *H. Bravo-Hollis s. n. 23* jun. 1967 (MEXU); Totolapan. *C. Gómez-Hinostroza 2039*, 21 jul. 2001 (MEXU); 600 metros sobre el camino de San José de Gracia a El Romedo. *D. Aquino et al 253*, 16 mar. 2012 (MEXU);

Km 84 contados a partir de la ciudad de Oaxaca rumbo a Tehuantepec. *D. Aquino et al 265*, 25 jun. 2013 (MEXU). DTO.: Yautepec, Mpio.: San Bartolo Yautepec. 5 km NW de Santa María Laxizonace. *J. Reyes 1900*, 05 ago. 1989 (MEXU); 37 km SE de El Camarón sobre la carretera a Tehuantepec. *C. Gómez-Hinostroza 2048*, 21 jul. 2001 (MEXU); Paraje Poza Verde, sobre el Río Chiquia, a 2.6 km en LR (NW) de Yautepec. *K. Velazco 3547*, 16 abril 2009 (MEXU, SERO); Mpio.: San Juan Lajarcia: Km 145 sobre la carretera 190, a 300 m del entronque de Santiago Vargas, *D. Aquino et al 248*, 16 marzo 2012 (MEXU); 2.8 km contados a partir de la carretera 190 hacia Santiago Vargas/RMO San Cristóbal, *D. Aquino et al 250*, 16 marzo 2012 (MEXU); Mpio.: Santa Ana Tavela: La Represa, sobre el río del pueblo, a 1.7 km en LR (86°) de Santa Ana Tavela. *K. Velazco 3195*, 16 mar. 2009 (MEXU); 3 km al SW de Santa Ana Tavela, rumbo a Nejapa de Madero, *D. Aquino et al 252*, 16 mar. 2012 (MEXU). **PUEBLA**: Mpio.: Tecamachalco. Tecamachalco. *L. Scheinvar et al. 5675*, 31 ago. 1990 (MEXU); Tecamachalco. *L. Scheinvar et al. 5700*, 31 ago. 1990 (MEXU); Tecamachalco. *L. Scheinvar et al. 5701*, 31 ago. 1990 (MEXU); S de Tecamachalco. *U. Guzmán et al. 1088*, 07 oct. 1994 (MEXU); 3.6 km al suroeste de Tecamachalco, *D. Aquino et al. 222*, 14 sep. 2011 (MEXU). Mpio.: Tlacotepec de Juárez. Tlacotepec de Benito Juárez, NW of Tehuacan Valley. *C. E. Smiths 4117*, 27 jul. 1961 (MEXU).

Mammillaria knippeliana Quehl, Monatsschr. Kakteenk. 17: 59. 1907. TIPO: MÉXICO, sin localidad, *K. Knippel s.n., s.f.* (tipo: no localizado).

Ejemplares examinados: **MORELOS**, Mpio. Cuernavaca: Cuernavaca. *E. Matuda s. n., s. f.* (MEXU); Colonia Las Guacamayas. *A. Flores-Crespo s. n.* 15 oct. 1961 (ENCB, XALU); Colonia La Unión, zona conurbada de la ciudad de Cuernavaca, *D. Aquino et al 261*, 11 ago. 2012 (MEXU). Mpio. Temixco. Cuentepec. *A. Flores 40*, 13 abril 2005 (HUMO).

Mammillaria mystax Mart. Nova Acta Acad. Caes. Leop. Carol. German. Nat. Cur. 16: 332. 1832. *Cactus mystax* (Mart.) Kuntze. Revis. Gen. Pl. 1: 261. 1891. *Neomammillaria mystax* (Mart.) Britton & Rose. Cactaceae 4: 92. 1923. TIPO: MÉXICO: sin localidad, *W. F. Karwinski s.n., s. f.* (Lectotipo: figura de *Mammillaria mystax* en Nova Acta Acad. Caes. Leop. Carol. German. Nat. Cur. 16, sin pag. 1832, designado por Mottram, 1980).

Mammillaria mixtecensis Bravo, Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México 25: 534. 1954. TIPO: MÉXICO. Lámina de *Mammillaria mixtecensis* en Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México 25: 533, fig. 28. 1954 (lectotipo, designado por Arias *et al.* 1997).

Mammillaria huajuapensis Bravo, Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México 25: 536. 1954. *Mammillaria mystax* Mart. var. *huajuapensis* (Bravo) Linzen. Mitt. Arbeitskreises Mammillarienfr. 15: 62. 1991. TIPO: MÉXICO. Lámina de *Mammillaria huajuapensis* en Anales Inst. Biol. Univ. Nac. México 25: 535, fig. 29. 1954 (lectotipo designado por Arias *et al.* 2012).

Mammillaria casoi Bravo, Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México 25: 540. 1954. TIPO: MÉXICO. Lámina de *Mammillaria casoi* en Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México 25: 537, fig. 30. 1954, (lectotipo, designado por Arias *et al.* 1997).

Ejemplares examinados: OAXACA, DTO. Coixtlahuaca. Mpio.: San Cristóbal Suchixtlahuaca: El Paso, S de San Cristóbal Suchixtlahuaca. C. Glass 3372, 1971 (MEXU); Aproximadamente 6.3 km sobre la carretera Suchixtlahuaca a Tejupan, D. Aquino *et al.* 231, 16 sep. 2011 (MEXU); Mpio.: San Juan Bautista Coixtlahuaca: 3.2 km sobre la terracería de Coixtlahuaca a Santa María Ixcatlán, D. Aquino *et al.* 229, 16 sep. 2011 (MEXU); Mpio. San Miguel Tulancingo. Cerros Tepitroja y Barroso. C. M. Cabrera s. n. s. f. (ENCB); Mpio. Tepelmeme Villa de Morelos: La Huerta. R. Cruz-Cisneros 2328a, 08 feb. 1969 (ENCB); 2 km E de Tepelmeme Villa de Morelos. S. Arias *et al.* 877, 20 oct. 1990 (MEXU); NE de Tepelmeme de Morelos. S. Gama *et al.* 90, 01 nov. 1991 (MEXU); 2.6 km al este de Tepelmeme, D. Aquino *et al.* 226, 15 sep. 2011 (MEXU). DTO. Huajuapán. Mpio.: Heroica Ciudad de Huajuapán de León. Huajuapán de León. R. Riba 333. 24 sep. 1958 (MEXU); 400 m S de Heroica Ciudad de Huajuapán de León. L. Scheinvar 5305. 10 mar. 1988 (MEXU); 400 m S de Heroica Ciudad de Huajuapán de León. L. Scheinvar 5305a. 10 mar. 1988 (MEXU). Mpio.: Santiago Chazumba. Carretera Santiago Chazumba-Huajuapán de León. T. Hernández-Hernández y J. Barba 40, 09 ago. 2006 (MEXU). Mpio.: Santiago Miltepec: 1 km N de Miltepec, km 91 carretera Tehuacán-Heroica Ciudad de Huajuapán de León. C. Glass s. n., 1971 (MEXU); 1 km N de Miltepec, km 91 carretera Tehuacán-Heroica Ciudad de Huajuapán de León. U. Guzman 879, 22 sep. 1991 (MEXU); 1 km al norte de Miltepec, D. Aquino *et al.* 238, 17 sep. 2012 (MEXU). DTO. Juxtlahuaca. Mpio.: San Juan Mixtepec. SE del Cerro Metates, segunda cañada, aproximadamente 5 km al NE de Pueblo Viejo. H. Hernández y J. Reyes 1254, 15 mar. 1989 (MEXU); 4 km NE de Pueblo Viejo. J. Reyes 1460, 15 mar. 1989 (MEXU); Antigua Cañada, 12 km al E de San Juan Mixtepec. J. Reyes 1476, 17 mar. 1989 (MEXU); Cañada Antigua (Yuu Nii), a 2 km del Río Mixtepec. J. Reyes 2141, 23 dic. 1989 (MEXU); DTO. Teposcolula. Mpio.: Villa Tejupan de la Unión. N

de Villa Tejúpam de la Unión. C. *Glass* 3361, 1971 (MEXU); N de Villa Tejúpam de la Unión. C. *Glass* s. n., 1971 (MEXU); 9 km del camino de Ruta 190 a San Juan Bautista Coixtlahuaca. D. H. *Lorence* y A. *García-Mendoza* 4778, 09 ago. 1985 (MEXU); 7.8 km N de Villa Tejúpam de la Unión, hacia San Juan Bautista Coixtlahuaca. R. *Torres-Colín* 9578, 12 abril 1987 (MEXU); Aproximadamente 6.3 km sobre la carretera de Tejúpam a Suchixtlahuaca, D. *Aquino et al* 233, 17 sep. 2011 (MEXU). Dto. Tlaxiaco, Mpio.: Santiago Nundiche: 3.5 km sobre la carretera a Nundiche contados a partir del entronque con la carretera 125, D. *Aquino et al* 242, 28 oct. 2011 (MEXU). **PUEBLA**. Mpio.: Ajalpan. 18 km sobre la desviación de Ajalpan rumbo a San Luis del Pino. S. *Arias et al.* 953. 26 oct. 1991 18 km sobre la desviación de Ajalpan rumbo a San Luis del Pino, S. *Arias* y U. *Guzmán* 1478, 04 mar. 2005 (MEXU). Mpio.: Atexcal. 4 Km S de Santiago Nopala, S. *Arias* & U. *Guzmán* 1061, 03 marzo 1993 (MEXU). Mpio. Caltepec. Cerro El Gavilán, SE de Caltepec, P. *Tenorio L.* 2728, 10 abril 1984 (MEXU). Mpio.; Cañada Morelos. Cañada Morelos. H. *Bravo-Hollis* s. n., mayo 1969 (MEXU); 5 Km S de Cañada Morelos, S. *Arias et al.* 979, 02 abril 1992 (MEXU). Mpio.: Chila de las Flores. 2.5 km sur de Chila de las Flores. *Salinas* 7488b. 08 sep. 1993 (MEXU); Cerro el Tepeyac. D. *Aquino et al.* 260, 31 jul. 2012. Mpio. Esperanza. Cerro Grande, 1 Km SW de Esperanza, S. *Arias* & U. *Guzmán* 1044, 27 feb. 1993 (MEXU); Cerro Grande, 1 Km SW de Esperanza, U. *Guzmán* y S. *Arias* 959, 28 feb. 1993 (MEXU); Aproximadamente 2 km al SW de Esperanza, D. *Aquino et al.* 223, 14 sep. 2011 (MEXU). Mpio.: Palmar de Bravo. Cuesta Blanca, "Cerro del Chivo", Palmar de Bravo. R. *Hernández M.* 1141, 03 sep. 1971 (REMIB). Mpio.: Tehuacán. Cerca de Tehuacán. H. *Bravo-Hollis* s. n., ago.1962 (MEXU); San Lorenzo, 5 km W of Tehuacán, D. R. *Hunt* 7290, 13 agosto 1969 (K); Meseta de San Lorenzo. L. *Scheinvar et al.* 2293a. 23 mar. 1978 (MEXU); Meseta de San Lorenzo. L. *Scheinvar et al.* 2293b. 23 mar. 1978 (MEXU); Meseta de San Lorenzo. L. *Scheinvar et al.* 2293. 23 mar. 1978 (MEXU); Cerca de Tehuacán. L. *Scheinvar et al* 2441, 19 oct.1979 (MEXU); 2 Km de Tehuacán hacia San Antonio Texcala, T. *Hernández-Hernández* y J. *Barba* 35, 09 agosto 2006 (MEXU); Meseta de San Lorenzo, D. *Aquino et al.* 225, 15 sep. 2011 (MEXU); Mpio. Zapotitlán Salinas, cerca de Zapotitlán Salinas, H. *Bravo-Hollis* S/N, marzo 1954 (MEXU); 11 Km sobre la terracería a San Luis Atolotitlán, S. *Arias et al.* 861, 08 agosto 1990 (MEXU).

Mammillaria polyedra Mart., Nov. Actorum Acad. Caes. Leop.-Carol. German. Nat. Cur. 16(1): 326. pl. 18. 1832. *Cactus polyedrus* (Mart.) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 1: 261. 1891.

Neomammillaria polyedra (Mart.) Britton & Rose, Cactaceae 4: 102. 1923. TIPO: MÉXICO. Oaxaca. *W. F. Karwinski s. n, s. f.* (Lectotipo: lámina de *Mammillaria polyedra* en Nov. Actorum Acad. Caes. Leop. Carol. German. Nat. Cur. 16: t. 18, s.p. 1832, designado por Reppenhagen, 1992).

Mammillaria multiseta Ehrenb., Allg. Gartenzeitung 17: 242. 1849. TIPO: MÉXICO. Puebla: Lámina de *Mammillaria multiseta* en Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México 25: 531, fig. 27. 1954 (neotipo designado por Arias *et al.* 2012).

Ejemplares examinados: GUERRERO. Mpio.: Huitzuc de los Figueroa. 4 km de Tlaxmalac, La Cuajotera. *J. Ramírez s. n.* 30 sep. 1972 (MEXU). Mpio. Atenango del Río, 7 km al NW de Atenango del Río. *E. Endañú-López & J. E. López 585.* 16 sep. 1994 (IZTA). Mpio. Xochihuehuetlán. 8 km al N de Xochihuehuetlán. *E. Endañú-López & J. E. López 152b.* 18 oct. 1987 (IZTA). **MORELOS.** Mpio.: Jantetelco. Peñón de Amayuca. *D. R. Hunt & D. B. Gold 9010,* 22 jul. 1976 (MEXU). Mpio.: Tlaquiltenango. 0.75 km SW de Huaxtla. *R. Cerros 454,* 29 oct. 1994 (HUMO); 4 km W de Huaxtla, Río Amacuzac. *C. Juárez 160,* 04 mayo 1995 (HUMO); 4.25 km E de Huaxtla, cerca del Cerro La Talla. *R. Castro 427,* 19 mayo 1995 (HUMO). **OAXACA.** DTO. Cuicatlán. Mpio.: San Juan Bautista Cuicatlán. Cerca de San Francisco Tutepetongo. *U. Guzmán et al. 1054,* 25 mar. 1994 (MEXU); Corral Viejo, a 200 m de la brecha de Santiago Quiotepec a San Juan Coyula. *R. García 423,* 31 mar. 2006 (MEXU); 500 m NW de la carretera Oaxaca-San Juan Bautista Cuicatlán, 1 Km antes de Santiago Domingullo. *C. Cruz-Espinosa 3191,* 14 mar. 2007 (MEXU). Mpio.: San Juan Tepeuxila. 6 km de San Juan Teponaxtla a Cuicatlán. *S. Arias y M. Cruz 2183,* 13 abril 2012 (MEXU). Mpio.: San Pedro Jaltepetongo. 1 km W de El Organal. *E. Torres 140,* 4 dic. 1993 (MEXU). Mpio.: Santiago Nacaltepec. El Mirador. *U. Guzmán 1521,* 16 nov. 1998 (MEXU). DTO. Etla. Mpio.: San Jerónimo Sósola. 1 km W de El Parián. *U. Guzmán et al. 879,* 30 jul. 1991 (MEXU); Río Florido. *D. Aquino y S. Arias 75.* 07 mar. 2007. Mpio.: San Juan Bautista Atlatlahuca. La Lagartija. *M. Vázquez 7.* 05 sep. 1992 (MEXU). DTO. Huajuapán. Mpio. Santiago Cacaloxtepec. *M. Rivas y Fitz-Maurice s. n.* 31 ene. 1988 (MEXU); 17 km antes de llegar a Huajuapán. *D. Aquino et al 236,* 17 sep. 2012 (MEXU); Mpio.: Santo Domingo Yodohino: 2.7 km sobre la terracería de Santo Domingo Yodohino a San Andrés Dinicuti, *D. Aquino et al. 257,* 31 jul. 2012 (MEXU). DTO. Ixtlán. Mpio.: Calpulalpan de Méndez. SE del Río Molinos, Tierra Caliente del lado de Natividad. *S. Figueroa et al 398,* 06 abril 2006 (MEXU). Mpio.: San Juan Quiotepec. Santo Domingo camino a, 4.23 km en LR al NE de

San Juan Quiotepec. S. *Salas-Morales* 1238, 21 dic 1996 (MEXU). DTO. Juxtlahuaca. Mpio.: San Juan Mixtepec. Río Azucenas, 14 km al NO de San Juan Mixtepec. *J. Reyes* 2165, 24 dic. 1989 (MEXU). DTO. Nochixtlán. Mpio. Asunción Nochixtlán. 35.3 km sobre la terracería Nochixtlán a San Juan Ixtaltepec. *D. Aquino & S. Arias* 38, 2 oct. 2006 (MEXU, FEZA). Mpio. Santiago Huaucuililla, 4.7 km sobre la terracería Huaucuililla-Tlalixtlahuaca, *D. Aquino & S. Arias* 54, 4 oct. 2006 (MEXU); 5.5 km sobre la terracería Huaucuililla-Tlalixtlahuaca, *D. Aquino & S. Arias* 100, 10 mar. 2006 (MEXU, FEZA); Mpio. Santiago Huaucuililla, km 10.5 terracería Huaucuililla-Tlalixtlahuaca, *D. Aquino & S. Arias* 103, 10 mar. 2007 (MEXU). DTO. Teposcolula. Mpio.: Chilapa de Díaz. 24.3 km sobre el camino de Tamazulapan a Santo Domingo Yodohino. *D. Aquino et al.* 256, 31 jul. 2012 (MEXU). Mpio. Villa de Tamazulapam del Progreso. Río del Oro, 2 Km W de Tamazulápam del Progreso. *A. García-Mendoza* 391, 17 mayo 1981 (MEXU); Río del Oro, 2 Km W de Tamazulápam del Progreso. *A. García-Mendoza* 391a, 17 mayo 1981 (MEXU); Alrededores de Río del Oro, 3 km antes del entronque a Santiago del Río, *D. Aquino et al.* 234, 17 sep. 2012 (MEXU). **PUEBLA.** Mpio.; Ahuehuetitla. El Papayo. *S. Arias & U. Guzmán* 1008, 03 dic. 1992 (MEXU); Carretera Federal 190, 1 km al norte de El Papayo, 4,5 km antes del Entronque Palomas, *D. Aquino et al.* 239, 18 sep. 2012 (MEXU). Mpio.: Tehuiztingo. 11 km contados de Izucar de Matamoros a Tehuiztingo, carretera Federal No. 90. *D. Aquino et al.* 262, 20 abril. 2013 (MEXU). Mpio.: Tepexi de Rodríguez. Lomas atras de San Antonio Huejonapan. *G. Gonzalez & R. Cid s. n.* 18 mayo 1986 (MEXU).

Mammillaria sartorii J. A. Purpus *Monatsschr. Kakteenk.* 21: 50. 1911. *Neomammillaria sartorii* (J. A. Purpus) Britton & Rose. *Cactaceae* 4: 82. 1923. TIPO: MÉXICO. Barranca de Tenampa, Vera Cruz [Veracruz], *J. A. Purpus s. n.* 1920 (tipo, no localizado).

Mammillaria sartorii f. *longispina* J. A. Purpus. *Monatsschr. Kakteenk.* 21: 50. 1911. TIPO: MÉXICO. Barranca de Zaenapam, Vera Cruz [Veracruz], *J. A. Purpus s. n.* 1920 (tipo, no localizado).

Mammillaria tenampensis (Britton & Rose) A. Berger. *Kakteen.* 325. 1929. *Neomammillaria tenampensis* Britton & Rose. *Cactaceae* 4: 101, 1923. TIPO: MÉXICO. Veracruz, Barranca de Tenampa, *J. A. Purpus s. n.* 1909. (Tipo, no localizado).

Ejemplares examinados: VERACRUZ. Mpio.: Actopan. El Común, Sierra de Manuel Diaz. *P. Acosta* 14, 12 oct. 1984 (XAL); Cerro El Pailón, Sierra Manuel Díaz. *P. Acosta* 35, 12 oct.

1984 (XAL); 3.5 km al SE de Cerro Gordo, *J. Reyes 3009*, 9 oct. 1992 (MEXU); 10 km NE de Mozomboa. *G. Castillo-Campos 18348*, 19 sep. 1998 (XAL). Mpio.: Alto Lucero. 4 km antes de La Reforma. *S. Arias et al. 2176*, 4 marzo 2012 (MEXU); Mpio. Calcahualco. Palo Gacho, cerca de Jalapa. *A. Calles s. n.* 15 sep. 1972 (MEXU); Palo Gacho, cerca de Jalapa. *H. Sánchez-Mejorada 2158*. s. f. (MEXU). Mpio.: Comapa. Barranca de Panoaya, 2 km N de El Coyol. *M. Medina 245*, 29 jun. 1985 (XAL). Mpio.: Jalcomulco. 1.5 km NW del poblado de Jalcomulco. *G. Castillo-Campos 17879*, 17 jun. 1998 (XAL); 5 km S de Santa María Tatetla. *G. Castillo-Campos 18278*, 03 sep. 1998 (XAL); 1.6 km antes de Jalcomulco, viniendo sobre la carretera Coatepec-Jalcomulco. *D. Aquino & S. Arias 245*, 20 enero 2012 (MEXU). Mpio.: Puente Nacional. Barranca de Pachuquilla, Puente Nacional. *M. Cházaro-Basañez 2040*, 03 dic. 1983 (XAL); Puente Nacional. *R. Hernández M. 1797*, 12 ene. 1973 (MEXU). Mpio.: Tenampa. Barranca de Tenampa. *H. Bravo-Hollis s. n.*, 1966 (MEXU); Barranca de Tenampa. *H. Sánchez-Mejorada 2155*, 10 nov. 1973 (MEXU). Mpio.: Totutla. 7.1 km sobre la terracería de Mata de Jobos a Santa María Tatetla, *D. Aquino & S. Arias 246*, 20 enero 2012 (MEXU).

Mammillaria variaeculeata Buchenau, *Cact. Suc. Méx.* 11: 79. 1966. TIPO: MÉXICO. Puebla, al sur de San Gabriel Chilac, *F. G. Buchenau s.n.*, s. f. (holotipo, MEXU!).

Ejemplares examinados: PUEBLA: Mpio. Coxcatlán, NE de Calipan. *U. Guzmán Cruz et al. 1091*. 07 nov. 1994 (MEXU).

Mammillaria voburnensis Scheer. *London J. Bot.* 4: 136. 1845. *Cactus voburnensis* [*voburnensis*] Kuntze. *Revis. Gen. Pl.* 1: 261. 1891. *Neomammillaria voburnensis* (Scheer.) Britton & Rose. *Cactáceae* 4: 100. 1923. TIPO: GUATEMALA. Sin localidad s.c. s.f. (Tipo, no encontrado).

Mammillaria chapinensis Eichlam & Quehl. *Monatsschr. Kakteenk.* 19: 5. 1909. TIPO: GUATEMALA. Sin localidad. *F. Eichlam s. n.*, 1905 (Tipo no localizado).

Neomammillaria collinsii Britton & Rose. *Cactaceae* 4: 103. 1923. *Mammillaria collinsii* (Britton & Rose) Orcutt. *Cactography* 7. 1926. *Mammillaria voburnensis* Scheer. var. *collinsii* (Britton & Rose) Repp. *Gattung Mammill. nach dem Heutigen Stand Meines Wissens* 175. 1987. *Mammillaria karwinskiana* Mart. subsp. *collinsii* (Britton & Rose) D.R.Hunt. *Mammillaria Postscripts* 6: 11 1997. *Mammillaria voburnensis*

Scheer. subsp. *collinsii* (Britton & Rose) U. Guzmán. Cactaceae Syst. Init. 16: 18. 2003. TIPO: MÉXICO. San Gerónimo [Jerónimo], near Tehuantepec, *G. N. Collins s. n.* dic. 1906 (neotipo: ZSS designado por Reppenhagen, 1987). *Mammillaria voburnensis* Scheer. var. *quetzalcoatl* Repp. Gattung Mammill. nach dem Heutigen Stand Meines Wissens 177. 1987. TIPO: MÉXICO. Oaxaca, Mixtequilla. *W. Reppenhagen 1504*. 08 mar. 1979. (Holotipo: ZSS).

Mammillaria eichlamii Quehl Monatsschr. Kakteenk. 18: 65. 1908. *Neomammillaria eichlamii* (Quehl) Britton & Rose. Cactaceae 4: 94. 1923. *Mammillaria voburnensis* var. *eichlamii* (Quehl) Repp. Gattung Mammill. nach dem Heutigen Stand Meines Wissens 178. 1987. *Mammillaria voburnensis* Scheer. subsp. *eichlamii* (Quehl) D. R. Hunt. Mammillaria Postscripts 6: 11. 1997. TIPO: GUATEMALA. Bei Sabanetas. *F. Eichlam, s. f.* (Tipo, no localizado).

Ejemplares examinados: EL SALVADOR. **SANTA ANA**. Mpio.: Metapan. Cerro Ostua. *G. Cerén 2591*, 29 mar. 2012 (MHES). GUATEMALA. **BAJA VERAPÁZ**. Mpio.: Salamá. 12 km N of Salamá on road to Cobán. *W. E. Harmon 2146*, 19 mar. 1970 (MO). **CHIQUMULA**. Mpio. Ipala. Ipala, Carretera Km 164. *M. Veliz 19677*, 29 ene. 2008 (BIGU); Chiquimula. *M. Veliz 19665*, 24 feb. 2008 (BIGU). **EL PROGRESO**. Mpio.: Cobán. Cobán, Carretera km 105. *M. Veliz 11249*, 18 mar. 2001 (MEXU, BIGU). Mpio.: Morazán. Aldea Pasasagua. *A. Covar 725*. 4 ago. 2003 (MEXU). Mpio.: San Agustín Acasaguastlán. 9 km E de El Rancho sobre el camino. *B. E. Leuenberger 2516*, 16 oct. 1978 (MEXU); San Agustín Acasaguastlán. *H. Paniagua D. 48*, 14 ago. 1979 (MEXU); San Agustín Acahuastlán-El Progreso. *H. Paniagua D. 286*, 18 mar. 1985 (BIGU); El Rancho. *M. Veliz 11248*, 18 mar. 2001 (MEXU); Pasasagua, km 89 camino a Cobán. *F. Ramirez 427*, 07 mar. 2003 (BIGU); San Agustín Acasaguastlán "transecto Myrtillocactus". *M. Veliz 13306*, 01 abril 2003 (MEXU, BIGU); San Agustín Acasaguastlán "transecto Paso Jalapas". *M. Veliz 13375*, 03 abril 2003 (MEXU). **HUEHUETENANGO**. Mpio.: Cuilco. Aldea Caníbal, riberas del Río Cuilco. *M. Veliz 19711*, 23 nov. 2006 (BIGU). **QUICHE**. Mpio.: Sacapulas. N of El Quiche road, 2 miles S of Sacapulas. *E. Hawkes 1738*, s. f. (K); El Camino. *M. Veliz 18024*, 26 jun. 2006 (BIGU). Mpio.: San Pedro Jocopilas. Orillas del Río Negro. *M. Veliz 19786*. 14 feb. 2008 (BIGU); Orillas del Río Negro. *M. Veliz s. n.* 03 nov. 2011 (BIGU). Mpio.: Usulután. Aldea Ojo de Agua – Palki. *M. Veliz 19729b*. 12 feb. 2011 (BIGU). **SAN MARCOS**. Mpio.: San Miguel Ixtahuacán. Aldea Salem. *O. Cano 148*. 02 jun. 2004 (BIGU). **ZACAPA**. Mpio.: Teculután. Km 106.2, cerca del Río Huyuz. *T. Calderón 404*, 11 dic. 2007 (BIGU). Mpio.: Usumatlán. Huyuz, km 105 camino a Teculután, "transecto Huyuz". *A. Covar 239*, 11 mar. 2003 (MEXU). Mpio.: Zacapa. Zacapa, Teculután. *T. Calderón 407*, 11 dic. 2004 (BIGU). HONDURAS. **EL PARAISO**. Mpio. Oropolí. Las Pintadas, aproximadamente 7 km al N de

Oropil, por el camino Oropil-Yuscarán. *J. L. Linares 6634*, 19 jun.2003 (MO). MÉXICO. **CHIAPAS**. Mpio.: Cintalapa. 6 km sobre el camino de Cintalapa a Triunfo de Madero. *A. F. Castorena 522*, 13 ene. 1988 (MEXU, ENCB). Mpio. Comitán. S de Comitán. *P. Cheuva 61,01* dic. 1977 (MEXU). Mpio. Jiquipilas. Jiquipilas camino a, 8.4 Km sobre el camino de Jiquipilas. *S. Arias et al. 1612*, 17 ene. 2007 (MEXU). Mpio.: La Trinitaria. 0.5 km E de Las Delicias. *S. Arias et al. 1650*, 20 ene. 2007 (MEXU). Mpio.: Motozintla. Cerca de Motozintla. *H. Bravo-Hollis s. n.* 01 mayo 1963 (MEXU); 2 km NW de Motozintla, sobre la carretera a Carrizal. *C. Gomez-Hinostroza 2087*, 27 jul. 2001 (MEXU). Mpio.: Tuxtla Gutierrez. Puente Belisario Domínguez, carretera Tuxtla Gutierrez-Chiapa de Corzo. *S. Arias & U. Guzmán 1031*, 21 dic. 1992 (MEXU). Mpio.: Tzimol. 5 km S de Tzimol. *J. Reyes 3159*, 16 nov. 1993 (MEXU). **OAXACA**. DTO. Juchitán. Mpio.: Matías Romero Avendaño. Km 101 carretera Matias Romero-Oaxaca, 12.3 Km LR ENE de San Pedro Totolapan. *E. Torres 1050*, 01 nov. 1995 (MEXU). Mpio.: Asunción Ixtaltepec. Enclave VIII. *J. Meave 1874*, 10 sep. 1995 (REMIB); 1.6 km en línea recta al NE (50°) de La Mata. *A. Saynes 3304*, 14 sep. 2002 (SERO); 1 Km sobre la carretera Nizanda-La Mata. *D. Aquino et al. 268*, 27 jun. 2013 (MEXU); La Mata. *D. Aquino et al. 269*, 27 jun. 2013 (MEXU). Mpio.: Ciudad Ixtepec. Cercanías de Ixtepec. *J. E. Elizondo 193*, 16 feb. 1982 (XAL). Mpio.: Juchitán de Zaragoza. La Pedrera, 14 Km al N de La Ventosa. *R. Cedillo T. 533*, 12 dic. 1980 (MEXU); 40 km de Matias Romero, cerca de La Ventosa. *L. Scheinvar 5253*, 07 mar. 1988 (MEXU); 4.5 km de La Ventosa. *S. Arias & U. Guzmán 1040*, 23 dic. 1992 (MEXU); 11 km E de Juchitán, hacia La Ventosa. *C. Gomez-Hinostroza 2180*, 10 jun. 2002 (MEXU). DTO. Tehuantepec. Mpio.: Ciudad Ixtepec. Enclave II. *E. Perez-García 798*, 26 oct. 1995 (REMIB). Mpio.: Magdalena Tequisistlán. Tequisistlán, km 675 carr. Cristobal Colón. *H. Bravo-Hollis s. n.* 26 mar. 1967 (MEXU); Tequisistlán, in cliffs beside the road. *D. R. Hunt 7229*, 23 sep. 1970 (K); Tequisistlán a 50 Km de Tehuantepec. *T. Herrera s. n.* 04 ago. 1969 (MEXU). Mpio.: Salina Cruz. Playa Ventosa, Salina Cruz. *H. Bravo-Hollis s. n.* 1952 (MEXU). Mpio.: San Pedro Huamelula. San Isidro Chacalapa, 3.5 km al N por la brecha hacia El Chongo, paso por el Río Chacalapa. *S. Salas-Morales 2567*, 04 dic. 1999 (MEXU, SERO). Mpio.: Santa María Jalapa del Marqués. Camino empedrado hacia la Torre de microondas de Jalapa del Marqués. *C. Gomez-Hinostroza 2176*, 09 jun. 2002 (MEXU). Mpio.: Santa María Mixtequilla. Cerro Guiengola. *R. Torres-Colín et al. 5308*, 25 jun. 1984 (MEXU); Cerro Guiengola. *L. Torres-Colín et al. 113*, 05 ago. 1982 (MEXU); Cerro Guiengola. *L. Torres-Colín et al. 174*, 15 sep. 1985 (MEXU); Ruinas del Cerro Guiengola, por la subida. *L. Torres-Colín et al. 370*, 12 jun. 1986 (MEXU); Las Pilas, 4 Km al Oeste de Mixtequilla. *R. Torres-Colín 13807b*, 06

nov. 1990 (MEXU); Cerro Guiengola. S. *Salas-Morales* 815, 17 feb. 1995 (OAX); 20 km NE de Tehuantepec, sobre la terracería a IGU. C. *Gomez-Hinostroza* 2057, 22 jun. 2001 (MEXU); 20 km NE de Tehuantepec, sobre la terracería a IGU. C. *Gomez-Hinostroza* 2221, 17 jul. 2001 (MEXU); 12.5 Km sobre la autopista Salina Cruz-Ixtepec, contados a partir del entronque con la carretera 190. D. *Aquino et al.* 267, 26 jun. 2013 (MEXU). Mpio.: Santiago Astata. 1 km SW del puente del Río Ayuta. A. *Saynes* 2653, 30 oct. 2001 (MEXU). Mpio.: Santiago Laollaga. Vandaquietiqui, camino a, camino al Cerro Indio Dormido, al NO de Laollaga. A. *Campos-Villanueva* 4030b, 22 oct. 1991 (REMIB); Nisaziña, rumbo a Jalapa del Marques, al Oeste de Laollaga, A. *Campos-Villanueva* 4030, 22 oct. 1991 (REMIB). Mpio.: Santo Domingo Tehuantepec. Cerro Tres Cruces, S de El Limón, 11.1 Km al Suroeste del entronque carretera Tehuantepec-Oaxaca. R. *Torres-Colín* 4258, 09 dic. 1983 (MEXU); Buenavista, ladera S del Cerro Guiengola, subiendo por la fábrica de cal. R. *Torres-Colín* 113, 05 ago. 1985 (REMIB). NICARAGUA. **MADRIZ**. Mpio. Somoto. Reserva Natural Tepesomoto. Comunidad de Aguas Calientes. R. *M. Rueda* 13976, 22 jul. 2000 (MO). **MANAGUA**. Mpio. Managua. 8 km N de Las Maderas, a lo largo de la carretera. W. *D. Stevens* 11131, 13 dic. 1978 (MEXU). **MATAGALPA**. Mpio. Sébaco. Quebrada Las Palomas, cerca de Chagüitillo. W. *D. Stevens* 11785, 19 ene. 1979 (MEXU).

Apéndice 2. Clave de identificación para las especies de *Mammillaria* serie *Polyedrae*

1. Axilas de los tubérculos desprovistas de cerdas..... ***M. carnea***
2. Axilas de los tubérculos provistas de cerdas distribuyéndose de manera uniforme o en la parte inferior del tallo..... **3**

3. Ancho de la aréola 0.08-0.20 cm; flores 1.25-1.40 cm de longitud; frutos 1.20-1.40 cm de longitud..... ***M. sartorii***
3. Ancho de la aréola mayor a 0.20; flores de longitud mayor a 1.45; frutos con una longitud mayor a 1.60..... **4**

4. Plantas que ramifican por división del ápice
5. Ancho de la base del tubérculo 0.60-1.00 cm, longitud de las cerdas 0.70-1.00 (1.10) cm, areólas obovadas..... ***M. karwinskiana***
5. Ancho de la base del tubérculo 0.45-0.55 cm, longitud de las cerdas 0.40-0.55 cm; areólas circulares..... ***M. beiselii***

4. Plantas monopódicas o que ramifican en la parte lateral del tallo
6. Espinas radiales presentes
7. Espinas radiales 16 a 22, 0.55-0.80 cm de longitud..... ***M. varieaculeata***
7. Espinas radiales en número menor a 12 y menor a 0.50 cm de longitud..... **8**
8. Longitud de los tubérculos 0.65-0.80 cm; flores amarillas..... ***M. voburnensis***
8. Longitud de los tubérculos 0.95-1.25 cm; flores rosadas..... **9**
9. Longitud de las espinas radiales 0.40-0.55 cm, longitud del fruto 2.30-2.80 cm..... ***M. mystax***
9. Longitud de las espinas radiales 0.20-0.35 cm, longitud del fruto, 1.80-2.15 cm..... ***M. erythra***

6. Espinas radiales ausentes
7. Plantas ramificadas, areólas circulares, flores amarillas, ancho de los tépalos externos 0.25-0.30 cm..... ***M. knippeliana***
7. Plantas monopódicas, areólas obovadas, flores rosadas, ancho de los tépalos externos 0.15-0.22 cm..... ***M. polyedra***

Apéndice 3. Caracteres morfológicos empleados en la filogenia

La siguiente lista de caracteres corresponde a la descripción de los 35 caracteres que contribuyeron a la filogenia, de los cuales cinco son cuantitativos, 29 son cualitativos y uno es ecológico. Los estados de carácter se acompañan de una descripción general y una ilustración, la terminología utilizada en los caracteres vegetativos y reproductivos se apega a la propuesta de Bravo-Hollis (1978) y Moreno (1984), mientras que los caracteres de la semilla se basan en la propuesta de Barthlott y Hunt (2000).

1. Consistencia del látex: El látex es cualquier exudado lechoso que suele contener hidrocarburos terpenoides producidos por el citoplasma de las células laticíferas, su función es impedir el paso de microorganismos al existir lesiones en la planta (Kekwick, 2001). El género *Mammillaria* se caracteriza por poseer tres tipos de látex los cuales difieren por la composición química como por la consistencia (Lüthy, 1995). Se codificaron cuatro estados de carácter: látex acuoso como en *Mammillaria lasiacantha*, látex semilechoso como en *M. duoformis*, látex lechoso como en *M. mammillaris* y látex ausente como en *Peleciphora strobiliformis*.

0) Acuoso 1) Semilechoso 2) Lechoso 3) Ausente

2. Ramificación: Los tallos de los miembros de la tribu Cacteeae pueden ser monopódicos; ramificados simpódicamente a partir de yemas laterales de la planta a diferentes alturas del tallo o puede ramificar dicotómicamente (Vázquez-Sánchez *et al.* 2012), algunos ejemplos pueden apreciarse en la Figura 11:

0) Monopódico 1) Simpódico 2) Dicotómico



Figura 11. Tipo de ramificación: los taxones pueden A) no ramificar (*Coryphantha calipensis*), B) ramificar a partir de brotes laterales (*Mammillaria sartorii*) o C) ramificar dicotómicamente (*M. karwinskiana*). Foto D. Aquino.

3. Forma del tubérculo en sección transversal: Para reconocer este carácter se tomó como patrón la figura observada cuando se hace una sección transversal del tubérculo. Estos pueden ser circulares (*Mammillaria lasiacantha*); tetragonales (*M. knippeliana*) o triangulares (*Pelecypora strobiliformis*).

0) Circular 1) tetragonal 2) triangular

4. Longitud del tubérculo: El análisis canónico discriminador reveló que la longitud del tubérculo es un carácter discreto que se puede dividir en cuatro grupos. Estos grupos se sustentan en un análisis de varianza ($F = 66.9464$ y $P < 0.05$):

0) 0.59 – 0.75 cm 1) 0.8 – 1.0 cm 2) 1.1 - 1.2 cm 3) 1.22 - 1.30 cm

5. Ángulo ventral del tubérculo: En algunas especies de *Mammillaria*, los tubérculos presentan aristas que forman ángulos a diferentes niveles, se codificó su presencia o ausencia (Fig. 12):

0) Ausente 1) Presente



Figura 12. Ángulo ventral del tubérculo: A) ausentes (*Mammillaria magnimamma*) o B) presentes (*M. polyedra*). Foto D. Aquino.

6. Surco sobre el tubérculo: En algunos géneros de la tribu Cacteeae (*Escobaria*, *Coryphantha*, *Ortegocactus* y *Pelecypora*) aparece un surco sobre la parte superior del

tubérculo, que puede abarcar desde el ápice hasta la parte media o incluso llega a la axila del tubérculo, mientras que, en géneros como *Mammillaria* no se presenta (Bravo-Hollis, 1978). Se codificaron dos estados de carácter (Fig. 13):

0) Ausente 1) Presente



Figura 13. Surco sobre el tubérculo: A) ausente (*Mammillaria sartorii*) o B) presente (*Escobaria missouriensis*). Foto D. Aquino.

7. Presencia de tricomas en las axilas de los tubérculos: los tricomas son estructuras multicelulares desarrolladas a partir de las células de la epidermis, las cuales se ubican en el tallo (Gibson y Nobel, 1986). En el caso de las especies estudiadas, los tricomas pueden estar presentes o ausentes (Fig. 14):

0) Ausente 1) Presente



Figura 14. Presencia de tricomas en las axilas del tubérculo: A) ausentes como en *Mammillaria heyderi* o B) presentes como en *M. voburnensis*. Foto D. Aquino.

8. Presencia de cerdas: las “cerdas” son pelos que presentan cierto grado de rigidez. En *Mammillaria* están presentes o ausentes en las axilas de los tubérculos (Bravo-Hollis, 1978). (Fig. 15):

0) Ausentes

1) Presentes



Figura 15. Cerdas en las axilas de los tubérculos: A) ausentes (*Mammillaria magnimamma*) o B) presentes (*M. erythra*). Foto D. Aquino.

9. Forma de la aréola: las aréolas se consideran homólogas a las yemas axilares de las demás dicotiledóneas, su forma es variable ya que pueden ser orbiculares, ovaladas u obovadas (Fig. 16):

0) Orbicular

1) Ovalada

2) Obovada

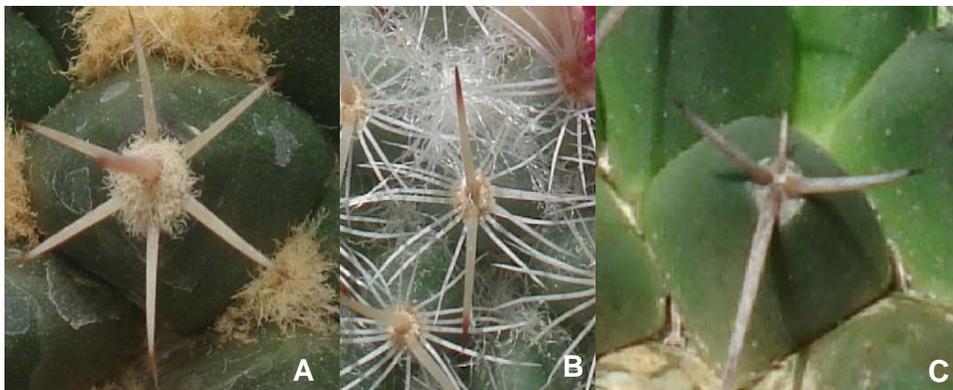


Figura 16. Forma de la aréola: A) orbiculares (*Mammillaria voburnensis*), B) ovaladas (*M. albilanata*) y C) obovadas (*M. magnimamma*). Foto D. Aquino.

10. Distinción entre espinas radiales y centrales: De acuerdo con Bravo-Hollis (1978) las espinas radiales son aquellas que están insertas en la periferia de la aréola, generalmente son más delgadas y numerosas que las espinas centrales. Cada juego de espinas se origina a partir de meristemas diferentes, las espinas radiales se originan a partir de los dos primeros meristemas, en tanto que, las centrales se originan a partir del

tercer meristemo (Gibson y Nobel, 1986). Se observaron dos estados de carácter: Indiferenciadas que es cuando no se puede hacer fácilmente la distinción entre espinas radiales y centrales o diferenciadas en donde se aprecian las espinas radiales en un color y forma diferente a las centrales (Fig. 17).

0) Indistinguibles 1) Distinguibles



Figura 17. Distinción entre espinas radiales y centrales: A) Indistinguibles (*Mammillaria karwinskiana*) o B) distinguibles (*M. voburnensis*). Foto D. Aquino.

11. Presencia de las espinas centrales: Las espinas centrales son aquellas que se ubican en el centro de la aréola y generalmente son más largas y gruesas, incluso presentan colores diferentes al que poseen las espinas radiales (Bravo-Hollis, 1978). Se codificaron dos estados de carácter: ausentes o presentes (Fig. 18):

0) Ausentes 1) Presentes



Figura 18. Presencia de espinas centrales: A) ausentes (*Mammillaria lasiacantha*) o presentes (*M. mystax*). Foto D. Aquino.

12. Forma de las espinas centrales: las espinas centrales presentaron dos estados de carácter: subuladas: aquellas que vistas en sección transversal son angostamente

triangulares y el ápice remata en punta y aciculares, las cuales son delgadas y cilíndricas a manera de agujas (Moreno, 1984) (Fig. 19):

0) Subuladas

1) Aciculares

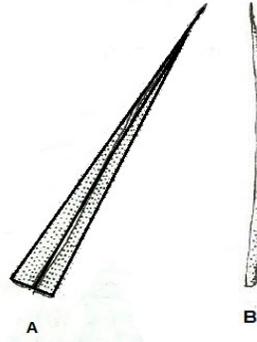


Figura 19. Forma de las espinas centrales: A) subuladas (*Mammillaria discolor*) o B) aciculares (*M. uncinata*). Imágenes tomadas y modificadas de Moreno (1984).

13. Forma del ápice de las espinas centrales: Se observaron dos formas distintas de ápice: espinas rectas y uncinadas, las cuales se definen como aquellas cuyo ápice está encorvado en forma de gancho (Bravo-Hollis, 1978) (Fig. 20):

0) Recto

1) Uncinado



Figura 20. Forma del ápice de las espinas centrales: A) rectas (*Mammillaria albilanata*) o B) uncinadas (*M. uncinata*). Foto D. Aquino.

14. Región donde emergen las flores: Las flores pueden emerger en dos regiones: en el ápice de los tallos como en *Coryphantha*, *Escobaria*, *Neolloydia*, *Pelecypora* y *Ortegocactus* o en las axilas inferiores de los mismos como en *Mammillaria* (Bravo-Hollis, 1978), (Fig. 21):

- 0) Apical 1) Subapical



Figura 21. Zonas de donde emerge la flor: A) apical (*Coryphantha calipensis*) o B) subapical (*Mammillaria karwinskiana*). Foto D. Aquino.

15. Longitud de la flor: Este carácter fue puesto a prueba en el análisis canónico discriminante encontrando que es estadísticamente significativo, apoyado por el análisis de varianza ($F = 92.45$ y $P < 0.05$):

- 0) 1.2 – 1.35 cm 1) 1.40 – 1.6 cm 2) 1.65-2.1 cm 3) 3.0 - 5.0 cm

16. Longitud de los tépalos externos: Se encontró que el análisis canónico discriminante revela significancia, por el análisis de varianza ($F = 17.9967$ y $P < 0.05$):

- 0) 0.46 – 0.60 cm 1) 0.67 – 0.86 cm 2) 1.0 – 1.25 cm

17. Forma de los tépalos externos: En la Figura 22 se esquematizan las formas planas descritas por Moreno (1984) en este caso los tépalos externos, los cuales pueden ser lanceolados que son aquellos con base más o menos amplia y atenuada en el ápice, (p. ej. *Mammillaria varieaculeata*); linear-lanceolados que es similar a la forma lanceolada pero la base es más angosta, (p. ej. *Mammillaria karwinskiana*); lineares cuando son prolongados y angostos, de márgenes más o menos paralelos (p. ej. *Coryphantha calipensis*) y espatulados, con forma de espátula, base angosta y ápice amplio y redondeado (*Neolloydia conoidea*):

0) Lanceolados

1) Linear-lanceolados

2) lineares

3) Espatulados

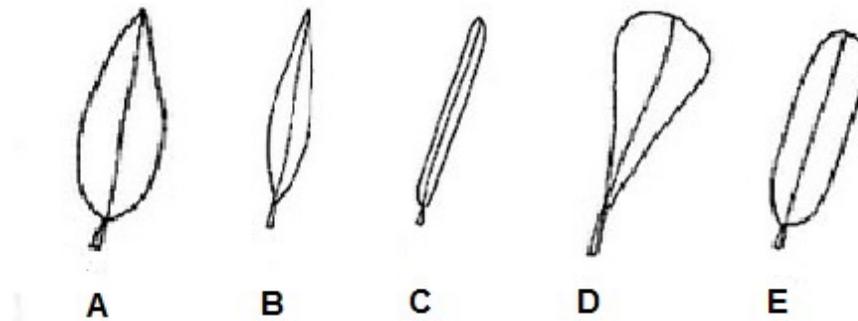


Figura. 22. Forma de los tépalos externos e internos: A) lanceolados, B) linear-lanceolados, C) lineares; D) espatulados y E) oblongos. Imágenes tomadas y modificadas de Moreno (1984).

18. Margen de los tépalos externos: En la Figura 23 se esquematizan los tipos de márgenes reconocidos por Moreno (1984), en este trabajo se identificaron tres formas distintas: enteros (sin ningún tipo de diente o entrada marginal); acerrados (cuando se presentan dientes agudos dirigidos hacia el ápice) o ciliados (cuando hay tricomas marginales). Se codificó de la siguiente forma:

0) Entero

1) Aserrado

2) Ciliado

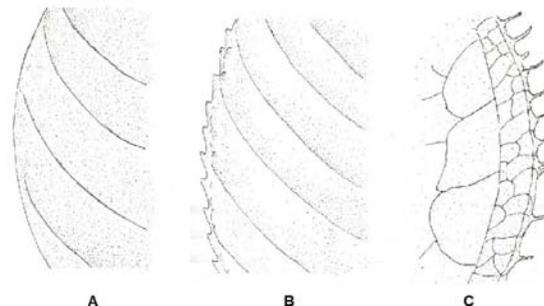


Figura 23. Margen de los tépalos externos: A) Enteros (*Mammillaria heyderi*); B) acerrados (*M. albilanata*); C) ciliados (*M. mystax*). Imágenes tomadas y modificadas de Moreno (1984).

19. Ápice de los tépalos externos: En la Figura 24 se esquematizan tres formas distintas de ápices observadas en los individuos: obtusos: con márgenes rectos a cóncavos que forman un ángulo mayor de 90° como en *Neolloydia conoidea*; agudos, con márgenes rectos o convexos que terminan en un ángulo entre 45° y 90° como en *Mammillaria*

compressa; acuminados, con márgenes rectos o convexos que terminan en un ángulo menor de 45° como en *M. carnea* (Moreno, 1984).

0) Obtusos

1) Agudos

2) Acuminados

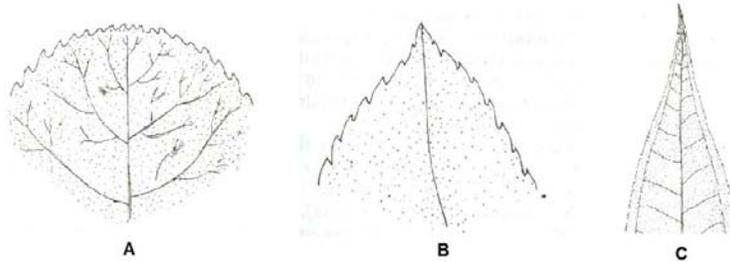


Figura 24. Ápice de los tépalos externos e internos: A) obtusos, B) agudos y C) acuminados. Imágenes tomadas y modificadas de Moreno (1984).

20. Color de los tépalos internos: el color de los tépalos internos presentan diversos matices que van desde colores intensos (rojos, rosados, amarillos) hasta aquellos que son menos coloridos como el blanco (Bravo-Hollis, 1978). Se observaron cuatro tipos de coloración, tomando en cuenta siempre el color dominante (Fig. 25):

0) Rosado

1) Amarillo

2) Magenta

3) Blanco



Figura 25. El color de los tépalos internos: A) rosados (*Mammillaria carnea*), B) amarillos (*M. karwinskiana*), C) blancos (*M. magnimamma*) y D) magenta (*Peleciphora strobiliformis*). Foto D. Aquino.

21. Longitud de los tépalos internos: El análisis canónico discriminante indica que es un carácter que permite reconocer a las especies de la serie *Polyedrae*, el cual es soportado por el análisis de varianza ($F = 18.51$ y $P < 0.05$):

0) 0.62-0.72 cm 1) 0.75-0.84 cm 2) 0.85-1.2 cm 3) 2.0-5.0 cm

22. Forma de los tépalos internos: Moreno (1984) describió las formas de los órganos foliares, en este caso se aplicaron a los tépalos internos. Se observaron cuatro formas distintas: lanceolados, (*Mammillaria compressa*); linear-lanceolados (*M. beisei*); oblongos, (*M. lasiacantha*) y espatulados (*Peleciphora strobiliformis*) (Fig. 22).

0) Lanceolados 1) Linear-lanceolados 2) Oblongos 3) Espatulados

23. Ápice de los tépalos internos: Se registraron tres formas de ápices: obtusos (*Mammillaria heyderi*); agudos (*M. uncinata*) y acuminados (*M. beisei*) (Fig. 24).

0) Obtuso 1) Agudo 2) Acuminado

24. Forma del fruto: De acuerdo con Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, (1991), en el género *Mammillaria* así como en el grupo hermano el tipo de fruto que presentan es una baya. Se reportan dos formas básicas esquematizadas en la Figura 26: claviformes o globosos (en forma esférica o circular, visto en sección transversal):

0) Claviforme 1) Globoso



Figura 26. Forma de los frutos: A) claviformes (*Mammillaria lasiacantha*) y B) globosos (*Neolloydia conoidea*). Foto D. Aquino.

25. Longitud del fruto: Este carácter ha sido propuesto para identificar especies, por ello se puso a prueba por medio del análisis canónico discriminante. El análisis de varianza indica que los valores son estadísticamente significativos ($F = 58.10$ y $P < 0.05$), se codificaron tres estados de carácter:

0) 0.5 – 1.2 cm 1) 1.25 – 1.90 cm 2) 1.95 – 3.00 cm

26. Color del fruto: el color de los frutos en Cactaceae se debe a la presencia de betalainas (Cuenoud *et al.*, 2002) y su función es la de atraer dispersores cuando estos han madurado (Bravo-Hollis, 1978), se observaron cuatro tipos de coloración: verdes, rojos, rosados y marrón (Fig. 27). Esta última no se pudo obtener una imagen y el color se documentó a partir de la literatura.

0) Verde 1) Rojo 2) Rosado 3) Marrón



Figura 27. Color del fruto: A) verdes (*Coryphantha calipensis*); B) rojos (*Mammillaria mystax*) y C) rosados (*M. polyedra*). Foto D. Aquino.

27. Serotinia: se define como el mecanismo mediante el cual, la planta retiene al menos una porción de sus semillas en alguna estructura, ya sea vegetativa o reproductiva, retrasando la dispersión, el cual tiene un significado evolutivo como respuesta a las condiciones áridas (Santini y Martorell, 2013). Este fenómeno está presente en algunos miembros de la tribu Cacteeae, principalmente en *Mammillaria*, *Neolloydia*, *Pelecycphora* y *Ortegocactus* (Fig. 28), se codificó de la siguiente manera:

0) Ausente 1) Presente



Figura 28. Detalle de semillas atrapadas entre los tubérculos de *Ortegocactus macdougallii* (Foto D. Aquino).

28. Color de las semillas: El color de las semillas depende de la pigmentación y el espesor de la cubierta seminal, en *Mammillaria* se pueden encontrar los tres tipos básicos de coloración señalados por Barthlott y Hunt (2000): negras con tonos pardos (*Mammillaria lasiacantha*); pardo con tonos rojizos (*M. duoformis*) o pardas (*M. polyedra*), se codificaron los tres estados de la siguiente manera:

0) Negra con tonos pardos 1) Pardo con tonos rojizos 2) Pardo

29. Lustre de las semillas: El lustre de la testa está en función de la escultura celular de las paredes de la semilla, ya que si la escultura no es evidente (Barthlott y Hunt, 2000), el lustre aumenta, se codificaron las tres variantes reconocidas: lustroso (*Coryphantha calipensis*); mate (*Mammillaria lasiacantha*) y semimate (*M. karwinskiana*):

0) Lustroso 1) Mate 2) Semimate

30. Forma de las células de la testa: Las células pueden presentar dos formas básicas en cuanto a su forma: isodiamétricas o elongadas (Fig. 29):

0) Isodiamétricas 1) Elongadas

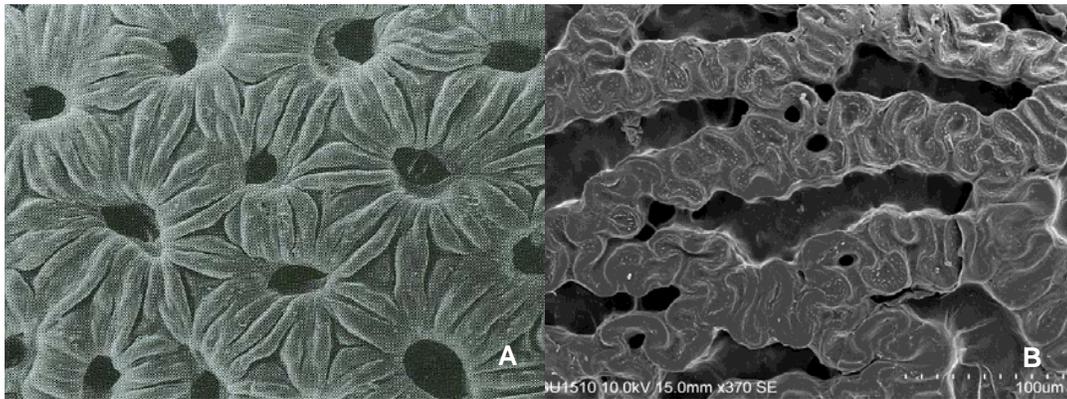


Figura 29. Forma de las células de la testa A) isodiamétrica (*Ortegocactus macdougalii*, foto tomada de Barthlott y Hunt, (2000)) y B) elongadas (*Mammillaria heyderi*). Foto B. Mendoza.

31. Relieve de la pared de las células anticlinales: El relieve puede ser imperceptible o plano, en forma acanalado o elevado. Los estados de carácter codificados son (Fig. 30):

- 0) Plano 1) Acanalado 2) Elevado



Figura 30. Relieve de la pared de las células anticlinales: A) plano (*Coryphantha calipensis*); B) acanalado (*Neolloydia conoidea*). C) elevado (*Mammillaria albilanata*). Foto B. Mendoza.

32. Curvatura de la pared periclinal: Básicamente las paredes anticlinales son regularmente rectas (Barthlott y Hunt, 2000), pero en *Mammillaria* existen cuatro tipos distintos de ondulaciones de las cuales tres se observaron este trabajo: Ondulaciones tipo-omega, ondulaciones tipo-U y ondulaciones tipo-S. Los estados de carácter propuestos y que se ilustran en la Figura 31 son:

- 0) Recta 1) Tipo-omega 2) Tipo-U 3) Tipo-S

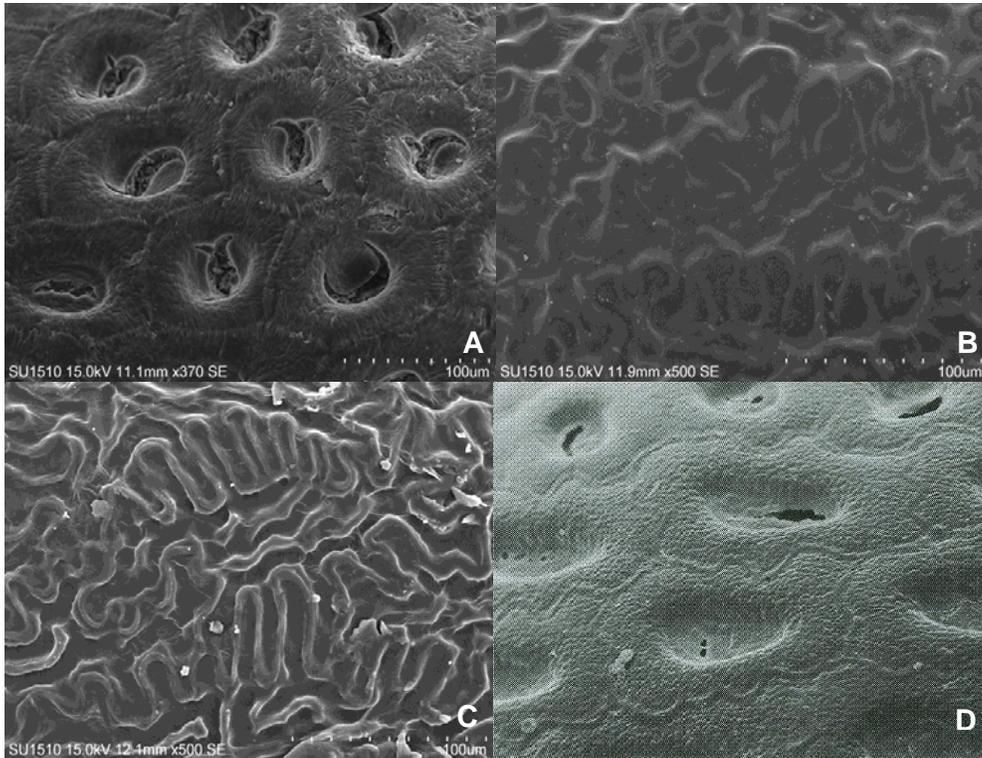


Figura 31. Curvatura de la pared periclinal: A) rectas (*Escobaria missouriensis*); B) ondulaciones tipo-omega (*Mammillaria mystax*); C) ondulaciones tipo-U (*M. magnimamma*) y D) ondulaciones tipo-S (*M. lasiacantha*). Foto B. Mendoza, figura D) tomada de Barthlott y Hunt (2000).

33. Estructura de la pared periclinal: Barthlott y Hunt (2000) describen tres formas en la que se puede observar la pared periclinal: plano o imperceptible como en *Coryphantha calipensis*; cóncavo cuando las paredes se han colapsado como en los géneros *Escobaria* y *Mammillaria* o convexo cuando la pared se eleva como en *Neolloydia*:

- 0) Plana 1) Cóncava 2) Convexo

34. Configuración de la región hilo-micropilar: en las semillas observadas se pudieron observar dos de las tres formas registradas por Barthlott y Hunt (2000): disyuntos o fusionados con una banda de tejido esclerificado (Fig. 32):

- 0) Disyunta 1) Fusionada

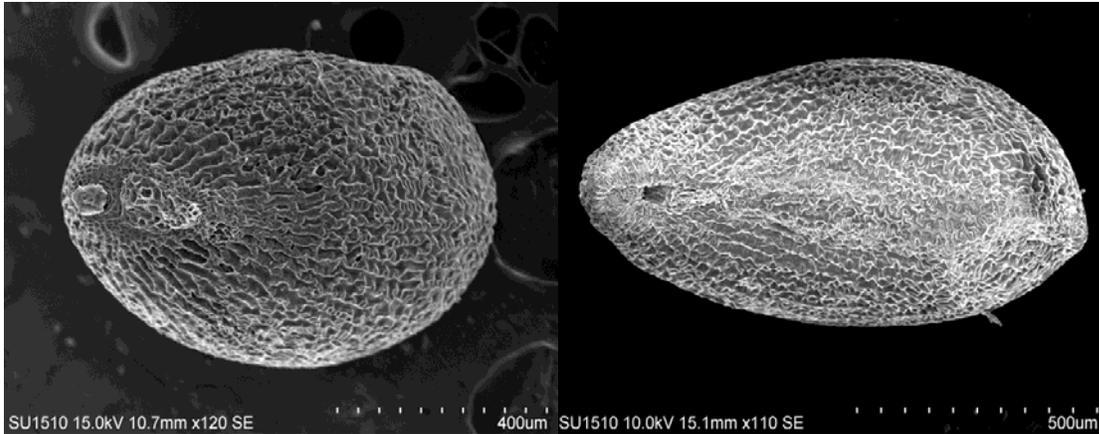


Figura 32. Configuración de la región hilo-micropilar: A) disyuntos (*Mammillaria karwinskiana*) o B) fusionados por una banda de tejido esclerificado (*M. voburnensis*). Foto D. Aquino.

35. Forma de la región hilo-micropilar: se registraron dos de las tres variantes observadas por Barthlott y Hunt (2000), ovaladas y del tipo “ojo de cerradura” (Fig. 33):

- 0) Ovalada 1) Ojo de Cerradura

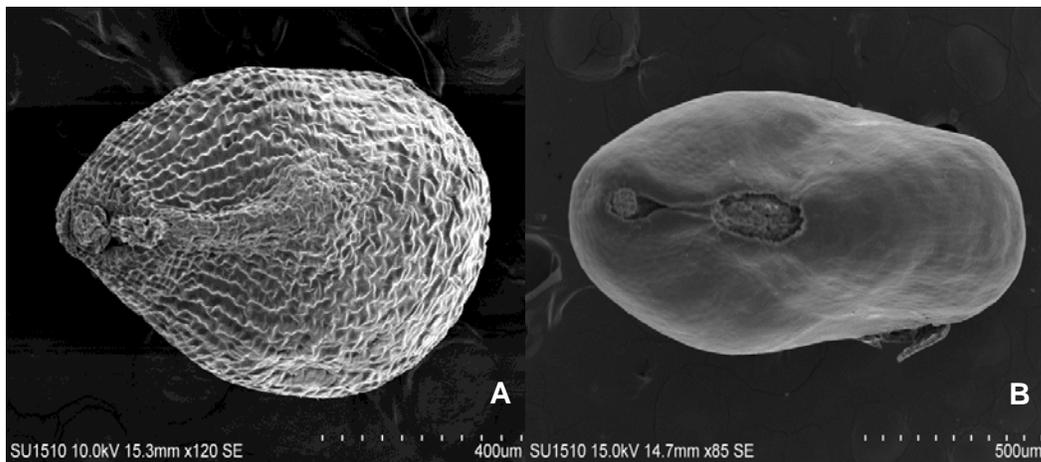


Figura 33. Forma de la región hilo-micropilar: A) ovaladas (*Mammillaria polyedra*) y B) Tipo ojo de cerradura (*Coryphantha calipensis*). Foto B. Mendoza.