



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

SISTEMÁTICA

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA DEL GÉNERO *DISOCACTUS* (CACTACEAE)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. en C. MIGUEL ÁNGEL CRUZ ESPINDOLA

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

COMITÉ TUTOR: DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, Cd. Mx. ENERO, 2018.



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.


Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora 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 2 de octubre de 2017, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de DOCTOR EN CIENCIAS del alumno CRUZ ESPINDOLA MIGUEL ÁNGEL con número de cuenta 98179376 con la tesis titulada: "Sistemática filogenética del género *Disocactus* (Cactaceae)", realizada bajo la dirección del DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES:

Presidente:	DRA. MARÍA HILDA FLORES OLVERA
Vocal:	DRA. ROSAURA GREYHER GONZÁLEZ
Secretario:	DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO
Suplente:	DRA SANDRA LUZ GOMEZ ACEVEDO
Suplente	DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 24 de noviembre de 2017.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



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

Agradecimientos.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por las facilidades académicas, administrativas y por el apoyo PAEP para concluir mi formación académica

Al CONACYT, por la beca de manutención (215188) otorgada durante mis estudios de doctorado.

Al programa DGAPA-PAPIIT, por el financiamiento para realizar el trabajo de campo y de laboratorio requerido en este trabajo de investigación. El apoyo fue concedido a través de SA (208315).

A mi tutor principal, el Dr. Salvador Arias por el apoyo y la confianza otorgada durante mi doctorado.

A los miembros de mi comité tutor:

A la Dra. Teresa Terrazas, por su apoyo, observaciones y sugerencias realizadas durante el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Arturo Becerra, por alentarme a continuar y aceptar una vez ser participe de mi formación académica.

Agradecimientos a título personal

Al Dr. Salvador Arias, por brindarme la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo, guiarme durante el desarrollo de mi doctorado y por ser un ejemplo de profesionalidad.

A los miembros del jurado, Dra. Hilda Flores (I. Biología, UNAM), Dra. Rosaura Grether (UAM-Iztapalapa) y Dra. Sandra Gómez (FES-Iztacala, UNAM), quienes amablemente revisaron el escrito, sus valiosos comentarios contribuyeron a enriquecer este texto.

A Barry Hammel (Missouri Botanical Garden, Instituto Nacional de Biodiversidad, Museo Nacional de Costa Rica), Gabriel Cerén, Jennie Menjivar (Museo de Historia Natural El Salvador) y Mario Veliz (Universidad San Carlos de Guatemala), por su apoyo en campo y el material facilitado.

A los herbarios BIGU, CR, ENCB, HNT, INB, MEXU, MHES, MO, UAMIZ, US, USJ y XAL.

A la Dra. Lidia Cabrera, por su asesoramiento en el Laboratorio de Sistemática Molecular de Botánica.

A la M. en C. Berenit Mendoza, por su asistencia en el Laboratorio de Microscopía Electrónica.

Al “Maestro” David Aquino, por compartir su conocimiento y principalmente por todos los momentos de diversión y alegría.

Al Biólogo Alfredo Ortiz, por brindarme su amistad.

A los compañeros de laboratorio, con los que no solo compartí actividades académicas sino también de diversión, Balbina Vázquez, Cristian Cervantes, Daniel Franco, Daniel Martínez, Daniel Sánchez, Héctor Tapia, Jorge Blanco, Marisela Yáñez y Yolanda Morales.

Dedicatoria

A mis padres *Reyna* y *Lucio*, por su cariño y apoyo incondicional, no importando la distancia.

A mi esposa *Marisela*, quien ha colmado mis días de alegría y amor. Gracias por aventurarte y aceptar ser mi compañera de vida a pesar de mi peculiar forma de ser.

A la familia *Yáñez Martínez*, por recibirme con los brazos abiertos y apoyarme como un miembro más.

Índice

Índice de figuras -----	2
Índice de tablas y apéndices -----	4
Resumen -----	5
Abstract -----	6
Introducción -----	8
Literatura citada -----	14
Capítulo I:	
Molecular phylogeny and taxonomy of the genus <i>Disocactus</i> (Cactaceae), based on the DNA sequences of six chloroplast markers. -----	19
Capítulo II:	
Análisis filogenético combinado para la tribu Hylocereeae F. Buxb. (Cactaceae) -----	40
Conclusiones generales -----	86

Índice de figuras

- Figura 1. Especies seleccionadas de *Disocactus* y géneros relacionados. ----23
- Figura 2. Árbol de consenso estricto (análisis de máxima parsimonia) de los datos de secuencias de ADN de cloroplasto combinados. -----26
- Figura 3. Árbol de mayoría al 50% (análisis de inferencia bayesiana) de los datos de secuencias de ADN de cloroplasto combinados.-----27
- Figura 4. Distribución geográfica de los taxones de *Disocactus* basada sobre registros de especies georreferenciados. -----29
- Figura 5. Topología del árbol de mayoría al 50% obtenido de la inferencia bayesiana (BI). -----67
- Figura 6. Reconstrucción de estados ancestrales de cuatro caracteres relevantes de tallo (forma de crecimiento, desarrollo de raíces aéreas a lo largo del tallo, número de costillas y espinas en las areolas del tallo adulto).----68
- Figura 7. Reconstrucción de estados ancestrales de cuatro caracteres relevantes de la flor (antesis, duración de la antesis, posición y color de los tépalos internos). -----69
- Figura 8. Reconstrucción de estados ancestrales de tres caracteres relevantes de la flor (síndrome de polinización, tipo de inserción de los estambres y longitud de la flor). -----70
- Figura 9. Reconstrucción de estados ancestrales de tres caracteres relevantes de la semilla (tamaño de la semilla, forma del complejo hilo-micropilar y reminiscencia de ariloide). -----71
- Figura 10. Grafía de caja y bigotes obtenida del análisis estadístico de la longitud de la flor. En el eje Y se muestra la longitud en centímetros.

En el eje X las especies analizadas, los números corresponden a su posición en la tabla 7.-----78

Figura 11. Gráfica de caja y bigotes obtenida del análisis estadístico del tamaño de la semilla. En el eje Y se muestra la longitud en milímetros del eje mayor de la semilla. En el eje X las especies analizadas, los números corresponden a su posición en la tabla 8.-----80

Figura 12. Topología del árbol de Consenso Estricto obtenido mediante Máxima Parsimonia (MP). Los números en las ramas indican los soportes de rama en valores de bootstrap (BS). -----84

Figura 13. Topología del árbol obtenido mediante Máxima Verosimilitud (ML). Los números en las ramas indican los valores de bootstrap (BS) como soporte de rama. -----85

Índice de tablas y apéndices

Tabla 1. Resumen de la posición específica de <i>Disocactus</i> y otros géneros relacionados basado sobre contribuciones taxonómicas previas. -----	21
Tabla 2. Resumen de los grupos infragenéricos de <i>Disocactus</i> , de acuerdo con los recientes estudios taxonómicos. -----	22
Tabla 3. Características numéricas de los marcadores alineados individualmente y combinados. -----	25
Tabla 4. Caracteres moleculares que apoyan los clados. -----	28
Tabla 5. Caracteres moleculares y morfológicos que apoyan a los seis clados y las relaciones entre ellos. -----	72
Tabla 6. Comparación de los soportes obtenidos del análisis combinado, con los resultados de Cruz <i>et al.</i> , (2016) y Korotkova <i>et al.</i> , (2017).-----	73
Tabla 7. Lista de especies analizadas en la figura 10.-----	79
Tabla 8. Lista de especies analizadas en la figura 11.-----	80
Apéndice 1. Taxones incluidos y número de acceso para los marcadores moleculares.-----	37
Apéndice 2. Listado de caracteres morfológicos y codificación. -----	74
Apéndice 3. Matriz de datos morfológicos. -----	82
Apéndice 4. Reconstrucción filogenética obtenida con Máxima Parsimonia (MP) y Máxima Verosimilitud (ML). -----	84

Resumen

Hylocereeae diversificó en los bosques tropicales y templados del sur de México y Centroamérica. Algunos géneros de esta tribu son ampliamente cultivados por sus frutos comestibles como *Hylocereus*, o con valor ornamental por la belleza de sus flores como *Disocactus*. Este último género incluye especies con formas de crecimiento terrestre, trepadora o epífita y exhibe una escasa delimitación morfológica. Además la ausencia de un estudio filogenético mantiene la monofilia del género en duda. Por lo tanto, se realizaron análisis filogenéticos mediante el criterio de máxima parsimonia (MP) e inferencia bayesiana (BI), empleando seis marcadores moleculares de cloroplasto, para 10 de las 11 especies del género. *Disocactus* es monofilético si se incorporan tres especies de *Epiphyllum* y se excluye *Aporocactus*, esto implica una nueva delimitación de *Disocactus* y *Epiphyllum*. Además, *Epiphyllum* y *Pseudorhipsalis* se reconocen como géneros hermanos de *Disocactus*. Sin embargo, la relación que guardan estos tres géneros aún es incierta. Algunos caracteres morfológicos usados para la delimitación de *Disocactus* han surgido más de una vez en Hylocereeae. La combinación de distintas fuentes de datos genera hipótesis filogenéticas más robustas. Sin embargo, en cactáceas aún son escasos los análisis combinados. El empleo de los datos morfológicos se ha restringido al mapeo o a la evolución de caracteres a partir de las hipótesis filogenéticas obtenidas de los datos moleculares. Se realizó un análisis combinado para 38 terminales de la tribu Hylocereeae con 19 caracteres morfológicos y seis marcadores moleculares de cloroplasto (dos intrones: *rpl16* y *trnL-F*; dos espaciadores: *psbA-trnH* y *trnQ-rps16*; y dos regiones codificantes: *matK* y *ycf1*); además, de la reconstrucción de estados ancestrales. Se obtuvo un árbol robusto y con mejor resolución en comparación con los análisis realizados exclusivamente

con datos moleculares. Se corroboró la monofilia de los seis géneros analizados (*Acanthocereus*, *Aporocactus*, *Disocactus*, *Epiphyllum*, *Selenicereus* y *Pseudorhipsalis*). Los caracteres morfológicos analizados han surgido más de una vez en la tribu. Se identificaron dos sinapomorfias para Hylocereeae, una para *Acanthocereus* y dos para *Epiphyllum*. Este estudio representa el primer análisis realizado bajo una perspectiva de evidencia total para la tribu.

Abstract

Hylocereeae has diversified in tropical and temperate forests of southern Mexico and Central America. Some genres of this tribe are widely cultivated for their edible fruits like *Hylocereus*, or are popular for the beauty of their flowers as *Disocactus*. This last genus includes species with forms of terrestrial growth, climber or epiphyte and exhibits a poor morphological delimitation. In addition, the absence of a phylogenetic study the monophyly of the genus remains in doubt. Therefore, phylogenetic analyses were performed using the criterion of maximum parsimony (MP) and Bayesian Inference (BI), using six chloroplast molecular markers, for 10 of the 11 species of the genus. *Disocactus* is monophyletic if three species of *Epiphyllum* are incorporated and the *Aporocactus* is excluded, this implies a new delimitation of *Disocactus* and *Epiphyllum*. In addition, *Epiphyllum* and *Pseudorhipsalis* are recognized as sister genera of *Disocactus*. However, the relationship of these three genera is still uncertain. Some morphological characters used for the delimitation of *Disocactus* have arisen more than once in Hylocereeae. The combination of data generates more robust phylogenetic hypotheses. However, this type of

analysis is still uncommon in cacti. The use of morphological data has been restricted to mapping or character evolution from phylogenetic hypotheses obtained from molecular data. A combined analysis was performed for 38 terminals of the tribe Hylocereeae with 19 morphological characters and six chloroplast molecular markers (two introns: *rpl16* and *trnL-F*, two spacers: *psbA-trnH* and *trnQ-rps16* and two coding regions: *matK* and *ycf1*), in addition to the reconstruction of ancestral states. A robust tree with better resolution was obtained in comparison to the analysis carried out exclusively with molecular data. The monophyly of the six genera analyzed (*Acanthocereus*, *Aporocactus*, *Disocactus*, *Epiphyllum*, *Selenicereus* and *Pseudorhipsalis*) were corroborated. The analyzed morphological characters have arisen more than once in the tribe. Two synapomorphies were identified for Hylocereeae, one for *Acanthocereus* and two for *Epiphyllum*. This study represents the first analysis conducted from a perspective of total evidence for the tribe.

Introducción

La familia Cactaceae Juss. incluye cerca de 1438 especies distribuidas en 124 géneros (Hunt *et al.*, 2006). Con excepción de una sola especie, *Rhipsalis baccifera*, la familia es exclusiva del continente americano (Barthlott, 1983) y se distribuye desde el norte hasta el sur del continente (Barthlott y Hunt, 1993; Nyffeler, 2002). Su área de distribución abarca diversos tipos de hábitats desde zonas áridas extremadamente secas hasta bosques húmedos tropicales (Anderson, 2001). La mayoría de los géneros han diversificado en las regiones áridas; sin embargo, algunos lo han hecho en regiones húmedas desarrollando formas de crecimiento como trepadoras o epífitas. Estos últimos géneros pertenecen a la subfamilia Cactoideae, tribus Hylocereeae y Rhipsalideae principalmente (Barthlott y Hunt, 1993; Hunt *et al.*, 2006). El centro de diversificación para la tribu Rhipsalideae se localiza en los bosques tropicales del sureste de Brasil, este de Bolivia y regiones adyacentes (Barthlott, 1983). Comprende a los géneros *Hatiora* Britton & Rose, *Lepismium* Pfeiff., *Shlumbergera* Lem. y *Rhipsalis* Gaerth., con forma de crecimiento principalmente epífita (Calvente *et al.*, 2011). Hylocereeae diversificó en los bosques tropicales y templados del sur de México y Centroamérica (Bravo-Hollis y Arias, 1999); incluye a los géneros *Disocactus* Lindl., *Epiphyllum* Haw., *Hylocereus* (A. Berger) Britton & Rose, *Pseudorhipsalis* Britton & Rose, *Selenicereus* (A. Berger) Britton & Rose y *Weberocereus* Britton & Rose (Bauer, 2003; Hunt *et al.*, 2006); con formas de crecimiento desde terrestres, trepadoras o epífitas. Algunos géneros de Hylocereeae tienen valor económico y son ampliamente cultivados por sus frutos comestibles como *Hylocereus* o bien ornamental como *Disocactus*. Este último incluye especies con formas de crecimiento terrestre, trepadora o epífita y exhibe una escasa delimitación morfológica.

Lindley en 1845 establece el género *Disocactus* para una especie con tallos planos y flores pequeñas de color rosa con pocos segmentos del perianto, una morfología peculiar en ese momento. Sin embargo, como en otros grupos de cactáceas, el conocimiento parcial de la diversidad existente, la dificultad para clasificar las especies altamente variables, los diferentes puntos de vista de los autores, quienes han resaltado similitudes o diferencias morfológicas, la propuesta de nuevos caracteres o su re-evaluación con nuevos métodos, son factores que han influido en la inestabilidad de la clasificación del género. Se han transferido especies de otros géneros a *Disocactus* o se han excluido de éste (Barthlott, 1991; Kimnach, 1993). El cambio más relevante en su delimitación fue realizado por Barthlott (1991), quien propone un concepto más inclusivo del género *Disocactus*, integrado predominantemente por especies de América Central y que presentan flores diurnas. Esto permitió incluir a los géneros *Aporocactus* Lem., *Heliocereus* Britton & Rose y *Nopalxochia* Britton & Rose en *Disocactus*. El género resultante presentaba una menor congruencia en los caracteres morfológicos que permitieran definirlo, e incluía cerca de 18 especies agrupadas en cinco subgéneros: *Aporocactus* (Lem.) Barthlott, *Ackermannia* (K. Schum.) Barthlott, *Disocactus* (Lindl.) Barthlott, *Nopalxochia* (Britton & Rose) Barthlott y *Wittia* (K. Schum.) Barthlott. La modificación más reciente es a nivel infragenérico. Hunt *et al.* (2006) retoman la propuesta de Barthlott y las modificaciones taxonómicas de Bauer (2003) y transfieren a *Disocactus amazonicus* al género *Pseudorhipsalis*, a *D. macdougallii* lo trasladan del subgénero *Nopalxochia* al subgénero *Ackermannia*, y algunas especies o variedades las categorizan como subespecies. Por lo tanto, *Disocactus* contiene ahora cuatro subgéneros y 11 especies, que se caracterizan por presentar flores de color intenso (amarillo a rojo) y diurnas. Sin embargo, la ausencia de un estudio filogenético ha

mantenido en duda la monofilia del género y de los cuatro subgéneros reconocidos por Hunt *et al.* (2006).

En las décadas pasadas, las filogenias moleculares han surgido como una alternativa para el reconocimiento de linajes y de sus relaciones dentro de la familia Cactaceae. Las primeras filogenias se enfocaron en la identificación de los grandes grupos como subfamilias y tribus (Nyffeler, 2002; Wallace y Gibson, 2002), sin embargo no resolvieron las relaciones correspondientes a niveles taxonómicos inferiores. Los análisis recientes, en donde se emplea un muestreo taxonómico más amplio y la combinación de varios marcadores, especialmente de plastos, han mejorado el conocimiento filogenético y han revelado que algunos géneros delimitados con morfología son para- o polifiléticos, como *Echinopsis* (Schlumpberger y Renner, 2012) o *Ferocactus* (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013). Además, se ha demostrado que la convergencia en el hábito, forma de crecimiento y síndromes de polinización (Hernández-Hernández *et al.*, 2011, 2014; Schlumpberger y Renner, 2012) es común dentro de la familia. Por lo que los caracteres morfológicos asociados con esos atributos son homoplásicos.

La homoplasia es el principal argumento que ha restringido el uso de los caracteres morfológicos en las reconstrucciones filogenéticas (Springer *et al.*, 2004; Eick *et al.*, 2005). No obstante, la homología y la homoplasia solo pueden ser reconocidas mediante un análisis cladístico y no puede ser asumida *a priori* (De Pinna 1991; Luna y Mishler 1996). Además, si los datos morfológicos pueden exhibir una mayor homoplasia, no es una razón suficiente para ignorar la señal filogenética potencial que posee la morfología (Baker y Gatesy, 2002). Diversos estudios han demostrado que los análisis combinados de datos morfológicos y moleculares generan filogenias con un mayor grado de resolución y mejores

soportes, en comparación con los datos analizados por separado (Carpenter y Wheeler, 1999; Freitas y Brown, 2004; Wahlberg *et al.*, 2005; Crowe *et al.*, 2006; Andrés-Hernández *et al.*, 2014). Estos resultados claramente indican que hay una señal filogenética oculta que es común (aunque no necesariamente fuerte) entre las diferentes particiones y puede ser revelada solo cuando las particiones son combinadas (Gatesy *et al.*, 1999). En Cactaceae, la morfología se ha limitado al mapeo de caracteres, por ejemplo *Echinopsis* (Schlumpberger y Renner, 2012) y a la reconstrucción de estados ancestrales, por ejemplo *Copiapoa* (Larridon *et al.*, 2015), con base en las hipótesis generadas a partir de las filogenias moleculares. Análisis filogenéticos usando ambos tipos de datos son escasos en la familia. Solo se han realizado para *Trichocereus* (Albesiano y Terrazas, 2011), *Eriosyce* subgénero *Neoporteria* (Guerrero *et al.*, 2011) y *Echinocereus* (Sánchez *et al.*, 2017). Los árboles obtenidos de un análisis combinado pueden ser empleados en análisis subsecuentes para probar hipótesis biogeográficas, ecológicas o evolutivas, entre otras. Por ejemplo, la reconstrucción de estados ancestrales permite inferir las características del ancestro de las especies o plantear la evolución de los rasgos para entender su función (Pagel, 1999). Para inferir los caracteres ancestrales se requiere de un modelo de cómo los rasgos se han transformado, y de una representación gráfica de las relaciones filogenéticas entre las especies. El modelo es utilizado para caracterizar el proceso responsable de la evolución de los rasgos y la filogenia indica las rutas probables por las cuales las especies ancestrales dieron origen a las especies contemporáneas (Pagel *et al.*, 2004). Si bien se han generado reconstrucciones de estados ancestrales para diversos rasgos morfológicos de cactáceas, todas se han realizado tomando como base una filogenia molecular. Actualmente no se tienen reconstrucciones de estados ancestrales empleando una filogenia construida con datos combinados.

Debido a la falta de un análisis filogenético que resuelva los problemas de delimitación del género *Disocactus* y su clasificación infragenérica, la elaboración de una filogenia molecular representa una alternativa eficaz para solucionar los problemas taxonómicos de dicho género. Por otra parte, el reducido número de filogenias construidas con datos morfológicos en conjunto con datos moleculares para cactáceas y la ausencia de análisis posteriores utilizando las hipótesis filogenias obtenidas de los análisis combinados justifican un análisis combinado para la tribu Hylocereeae y la reconstrucción de estados ancestrales para un conjunto de caracteres morfológicos.

El presente trabajo de investigación está dividido en dos capítulos. El capítulo I corresponde a la pieza central de esta tesis y aborda aspectos fundamentales para la sistemática del género *Disocactus*, tiene como objetivos: 1) realizar una reconstrucción filogenética del género *Disocactus* usando seis marcadores moleculares de cloroplasto (dos intrones: *rpl16* y *trnL-F*; dos espaciadores: *psbA-trnH* y *trnQ-rps16*; y dos regiones codificantes: *matK* y *ycf1*) a fin de evaluar si *Disocactus* y los subgéneros reconocidos por Hunt *et al.* (2006: *D.* subg. *Ackermannia*, *D.* subg. *Aporocactus*, *D.* subg. *Disocactus* y *D.* subg. *Nopalxochia*) son monofiléticos, entender la posición de *Disocactus* dentro de la tribu Hylocereeae y generar una propuesta taxonómica para *Disocactus* con base en los resultados (capítulo I: Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Disocactus* (Cactaceae), based on the DNA sequences of six chloroplast markers).

En el capítulo II se explora para la tribu Hylocereeae la relevancia de los datos morfológicos en el establecimiento de hipótesis filogenéticas bajo un contexto de evidencia total y tiene como objetivos: 1) mediante un análisis combinado poner a prueba la robustez de los géneros propuestos con caracteres moleculares para la tribu Hylocereeae (Korotkova

et al., 2017), 2) examinar la contribución de los caracteres morfológicos en el establecimiento de hipótesis filogenéticas robustas, 3) evaluar su valor taxonómico y 4) plantear una hipótesis sobre la evolución del epifitismo en Hylocereeae (capítulo II: Análisis filogenético combinado para la tribu Hylocereeae F. Buxb. (Cactaceae)).

Literatura citada

- Albesiano S. y T. Terrazas, 2011. Cladistic analysis of *Trichocereus* (Cactaceae: Cactoideae: Trichocereae) based on Morphological data and chloroplast DNA sequences. *Haseltonia* **17**:3-23.
- Anderson E. F. 2001. The cactus family. Portland: Timber Press.
- Andrés-Hernández A. R., T. Terrazas, G. Salazar y H. Ochoterena. 2014. Phylogenetic analysis based on structural and combined analyses of *Rhus* s. str. (Anacardiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **176**: 452-468.
- Baker R.H. y J. Gatesy. 2002. Is morphology still relevant? En: De Salle, R., G. Giribet, W. Wheeler (Eds.), *Molecular systematics and evolution: theory and practice*. Birkhauser Verlag, Basel.
- Barthlott W. 1983. Biogeography and evolution in neo- and paleotropical Rhipsalinae. En: K. Kubitzki (Eds.), *Dispersal and Distribution*, pp. 241-248. Verlag Paul Parey, Hamburg, Germany.
- Barthlott W. 1991. *Disocactus*. En: Hunt D. y Taylor N. P. (eds). Notes on miscellaneous genera of Cactaceae. *Bradleya* **9**: 86-88.
- Barthlott W. y D. Hunt. 1993. Cactaceae. En : K. Kubitzki (Eds.), *The families and genera of vascular plants*, vol. 2 pp. 161-197. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Bauer R. 2003. A synopsis of the tribe Hylocereeae F. Buxb. *Cactaceae Systematics Initiatives* **17**: 3-63.

- Bravo-Hollis H y S. Arias. 1999. Sinopsis de la familia Cactaceae en Mesoamérica. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **44**(1): 4-19.
- Calvente A., D.C. Zappi, F. Forest y L.G. Lohmann. 2011. Molecular phylogeny, evolution, and biogeography of South American epiphytic cacti. *International Journal of Plant Sciences* **172**(7): 902-914.
- Carpenter J.M. y W.C. Wheeler. 1999. Towards simultaneous analysis of morphological and molecular data in Hymenoptera. *Zoologica Scripta* **28**: 251-260.
- Crowe T.M., R.C.K. Bowie, P. Bloomer, T.G. Mandiwana, T.A.J. Hedderson, E. Randi, S.L. Pereira y J. Wakeling. 2006. Phylogenetics, biogeography and classification of, and character evolution in, gamebirds (Aves: Galliformes): effects of character exclusion, data partitioning and missing data. *Cladistics* **22**: 495-535.
- De Pinna M.G.G. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* **7**: 367-394.
- Eick G.N., D.S. Jacobs y C.A. Matthee. 2005. A nuclear DNA phylogenetic perspective on the evolution of echolocation and historical biogeography of extant bats (Chiroptera). *Molecular Biology and Evolution* **22**(9): 1869-1886.
- Freitas A.V.L. y K. S. Brown. 2004. Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera). *Systematic Biology* **53**(3): 363-383.
- Gatesy J., P. O'Grady y R.H. Baker. 1999. Corroboration among data sets in simultaneous analysis: Hidden support for phylogenetic relationships among higher level Artiodactyl taxa. *Cladistics* **15**: 271-313.

- Guerrero P.C., M.T.K. Arroyo, R. O. Bustamante, M. Duarte, T.K. Hagemann y H.E. Walter. 2011. Phylogenetic and predictive distribution modeling provide insights into the geographic divergence of *Eriosyce* subgen. *Neoporteria* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution* **297**: 113-128.
- 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). *American Journal of Botany* **98**(1): 44-61.
- Hernández-Hernández T., J.W. Brown, B.O. Schlumpberger, L.E. Eguiarte y S. Magallón. 2014. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the new world succulent biome. *New Phytologist* **202**: 1382-1397.
- Hunt D., Taylor N. P. y Charles G. 2006. The new cactus lexicon. Milborne Port: Dh Books.
- Kimnach M. 1993. The genus *Disocactus*. *Haseltonia* **1**:95-139
- Larridon I., H.W. Walter, P.C. Guerrero, M. Duarte, M.A. Cisternas, C.P. Hernández, K. Bauters, P. Asselman, P. Goetghebeur y M.S. Samain. 2015. An integrative approach to understanding the evolution and diversity of *Copiapoa* (Cactaceae), a threatened endemic Chilean genus from the Atacama Desert. *American Journal of Botany* **102**(9): 1506-1520.
- Lindley J. 1845: *Disocactus*. *Edwards's botanical register*, **31**.

- Luna E. y B.D. Mishler. 1996. El concepto de homología filogenética y la selección de caracteres taxonómicos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **59**: 131-146.
- Nyffeler R. 2002: Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *trnK/ matK* and *trnL- trnF* sequences. *American Journal of Botany* **9**: 312-326.
- Pagel A. 1999. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* **401**: 877-884.
- Pagel M., A. Meade y D. Barker. 2004. Bayesian estimation of ancestral character states on phylogenies. *Systematic Biology* **53**(5): 673-684.
- Sánchez D., T. Terrazas, D. Grego-Valencia y S. Arias. 2017. Phylogeny in *Echinocereus* (Cactaceae) based on combined morphological and molecular evidence: taxonomic implications. *Systematics and Biodiversity*. DOI: 10.1080/14772000.2017.1343260
- Schlumpberger B.O. y S. Renner. 2012. Molecular phylogenetics of *Echinopsis* (Cactaceae): polyphyly at all levels and convergent evolution of pollination modes and growth forms. *American Journal of Botany* **99**(8): 1335-1349.
- Springer M.S., M.J. Stanhope, O. Madsen y W.W. de Jong. 2004. Molecules consolidate the placental mammal tree. *Trends in Ecology and Evolution* **19**(8): 430-438.
- Vázquez-Sánchez M., T. Terrazas, S. Arias y H. Ochoterena. 2013. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cactaeae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity* **11**(1): 103-116.

- Wahlberg N., M.F. Braby, A.V.Z. Brower, R. de Jong, M.M. Lee, S. Nylin, N.E. Pierce, F.A.H. Sperling, R. Vila, A.D. Warren y E. Zakharov. 2005. Synergic effects of combining morphological and molecular data in resolving the phylogeny of butterflies and skippers. *Proceedings of Royal Society B* **272**: 1577-1586.
- Wallace R. S. y A. C. Gibson. 2002. Evolution and systematics. En: Nobel P.S. (ed.), *Cacti: biology and uses*. California, USA. University of California Press.

CAPÍTULO I

Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Disocactus* (Cactaceae), based on the DNA sequences of six chloroplast markers.

Autores: Miguel Ángel Cruz, Salvador Arias y Teresa Terrazas.

Fuente: Willdenowia, 46(1): 145-164.

Fecha de publicación: Abril 2016

Publicado por: Botanic Garden and Botanical Museum Berlin (BGBM)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3372/wi.46.46112>

URL: <http://www.bioone.org/doi/full/10.3372/wi.46.46112>

MIGUEL ÁNGEL CRUZ¹, SALVADOR ARIAS^{1*} & TERESA TERRAZAS²

Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Disocactus* (Cactaceae), based on the DNA sequences of six chloroplast markers

Version of record first published online on 1 April 2016 ahead of inclusion in April 2016 issue.

Abstract: The genus *Disocactus* is native to Mexico and Central America and includes 11 species in four subgenera: *D.* subg. *Ackermannia*, *D.* subg. *Aporocactus*, *D.* subg. *Disocactus* and *D.* subg. *Nopalxochia*. Phylogenetic reconstruction was carried out with data from DNA sequences using the maximum parsimony and Bayesian inference criteria to explore the monophyly of the genus, its subgenera and its position within *Hylocereeae*. Six chloroplast markers (*matK*, *psbA-trnH*, *rpl16*, *trnL-F*, *trnQ-rps16* and *ycf1*) were sequenced in ten species of *Disocactus*, 17 representatives from the remaining genera of *Hylocereeae* and five members of outgroups (*Acanthocereus*, *Lemaireocereus* and *Pereskia*). Our phylogenetic analysis supports neither the monophyly of *Disocactus* as it is currently defined nor that of the subgenera. The clade *Disocactus* s.str. was recovered for 13 species, including *Epiphyllum anguliger*, *E. crenatum* and *E. lepidocarpum*. Three subclades were observed within this clade, and three well-supported sister-species relationships were recovered: *D. eichlamii* and *D. quezaltecus*; *D. biformis* and *D. nelsonii*; and *D. ackermannii* and *D. phyllanthoides*. *Disocactus speciosus* subsp. *aurantiacus* was not recovered in the clade of *D. speciosus*. *Epiphyllum* and *Pseudorhypsalis* are identified as sister clades of *Disocactus*. Based on the obtained results, a new circumscription for *Disocactus* is proposed.

Key words: *Aporocactus*, Bayesian inference, Cactaceae, chloroplast DNA, *Disocactus*, *Epiphyllinae*, *Epiphyllum*, epiphytic cacti, *Hylocereeae*, *Hylocereinae*, maximum parsimony, molecular phylogeny, *Pseudorhypsalis*, taxonomy

Article history: Received 14 October 2015; peer-review completed 25 November 2015; received in revised form 30 January 2016; accepted for publication 3 February 2016.

Citation: Cruz M. Á., Arias S. & Terrazas T. 2016: Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Disocactus* (Cactaceae), based on the DNA sequences of six chloroplast markers. – Willdenowia 46: 145–164. doi: <http://dx.doi.org/10.3372/wi.46.46112>

Introduction

The genus *Disocactus* Lindl. (Cactaceae, Cactoideae, *Hylocereeae*) includes species with terrestrial, climbing and epiphytic growth forms. These species exhibit diurnal, brightly coloured flowers and may be found from central Mexico to Central America (Barthlott & al. 2015). However, as in other groups of cacti, the delimitation of the genus has been modified over the years, as a reflection of an oscillating taxonomic history. In 1845, Lindley proposed *Disocactus* as a monotypic genus for *Cereus biformis* Lindl., a species native to Guatemala, with morphological characteristics that were sufficiently distinct

from other cacti, such as flat stems and small pink flowers with few perianth segments. Later, Britton & Rose (1923) added another species, which was also from Guatemala (Table 1). In subsequent years, four species were added to *Disocactus*: two corresponded to taxa that were transferred from other genera (*Rhypsalis* Gaertn. and *Pseudorhypsalis* Britton & Rose), and two represented monotypic genera (*Bonifazia* Standl. & Steyerm. and *Chiapasiasia* Britton & Rose). Therefore, Bravo-Hollis (1978) recognized six species in *Disocactus* (Table 1) based on the classification of Buxbaum (1958).

In the 1990s, the genus *Disocactus* underwent two major modifications in terms of its delimitation and the

1 Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México D.F. 04510, Mexico; *e-mail: sarias@ib.unam.mx (author for correspondence).

2 Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México D.F. 04510, Mexico.

Table 1. Summary of specific placement in *Disocactus* and other related genera based on previous taxonomic contributions.

Lindley (1845)	Britton & Rose (1923)	Bravo-Hollis (1978)	Barthlott (1991a, b)	Kimnach (1993)	Hunt & al. (2006)
<i>Disocactus</i>	<i>Disocactus</i>	<i>Disocactus</i>	<i>Disocactus</i>	<i>Disocactus</i>	<i>Disocactus</i>
<i>D. biformis</i>	<i>D. biformis</i> <i>D. eichlamii</i>	<i>D. biformis</i> <i>D. eichlamii</i> <i>D. macranthus</i> <i>D. nelsonii</i> <i>D. ramulosus</i> <i>D. quezaltecus</i>	<i>D. ackermannii</i> <i>D. amazonicus</i> <i>D. auranticus</i> <i>D. biformis</i> <i>D. cinnabarinus</i> <i>D. eichlamii</i> <i>D. flagelliformis</i> <i>D. macdougallii</i> <i>D. macranthus</i> <i>D. martianus</i> <i>D. nelsonii</i> <i>D. phyllanthoides</i> <i>D. quezaltecus</i> <i>D. schrankii</i> <i>D. speciosus</i>	<i>D. acuminatus</i> <i>D. alatus</i> <i>D. amazonicus</i> <i>D. biformis</i> <i>D. eichlamii</i> <i>D. himantocladus</i> <i>D. horichii</i> <i>D. lankesteri</i> <i>D. macranthus</i> <i>D. nelsonii</i> <i>D. quezaltecus</i> <i>D. ramulosus</i>	<i>D. ackermannii</i> <i>D. biformis</i> <i>D. eichlamii</i> <i>D. flagelliformis</i> <i>D. macdougallii</i> <i>D. macranthus</i> <i>D. martianus</i> <i>D. nelsonii</i> <i>D. phyllanthoides</i> <i>D. quezaltecus</i> <i>D. speciosus</i>
	<i>Aporocactus</i> <i>A. conzattii</i> <i>A. flagelliformis</i> <i>A. flagriformis</i> <i>A. leptophis</i> <i>A. martianus</i>	<i>Aporocactus</i> <i>A. conzattii</i> <i>A. flagelliformis</i> <i>A. flagriformis</i> <i>A. leptophis</i> <i>A. martianus</i>			
	<i>Chiapasias</i> <i>C. nelsonii</i>	<i>A. flagriformis</i> <i>A. leptophis</i> <i>A. martianus</i>			
	<i>Heliocereus</i> <i>H. amecamensis</i> <i>H. cinnabarinus</i> <i>H. elegantissimus</i> <i>H. schrankii</i>	<i>Heliocereus</i> <i>H. cinnabarinus</i> <i>H. elegantissimus</i> <i>H. speciosus</i>	<i>Pseudorhypsalis</i> <i>P. horichii</i> <i>P. lankesteri</i> <i>P. ramulosa</i>	<i>Aporocactus</i> <i>A. flagelliformis</i> <i>A. martianus</i>	<i>Pseudorhypsalis</i> <i>P. acuminata</i> <i>P. alata</i> <i>P. amazonica</i> <i>P. himantoclada</i> <i>P. lankesteri</i> <i>P. ramulosa</i>
	<i>Nopalxochia</i> <i>N. phyllanthoides</i>	<i>Nopalxochia</i> <i>N. ackermannii</i> <i>N. conzattianum</i> <i>N. macdougallii</i> <i>N. phyllanthoides</i>		<i>Heliocereus</i> <i>H. aurantiacus</i> <i>H. cinnabarinus</i> <i>H. schrankii</i> <i>H. speciosus</i>	
	<i>Pseudorhypsalis</i> <i>P. alata</i> <i>P. himantoclada</i>			<i>Nopalxochia</i> <i>N. ackermannii</i> <i>N. macdougallii</i> <i>N. phyllanthoides</i>	
	<i>Wittia</i> <i>W. amazonica</i> <i>W. panamensis</i>				

number of included species. Barthlott (1991a) modified the delimitation by proposing a more inclusive genus that consisted of species that share a distribution in Central America and are characterized by diurnal flowering. Barthlott (1991a) transferred the genera *Aporocactus* Lem., *Heliocereus* Britton & Rose, *Nopalxochia* Britton & Rose and *Wittia* K. Schum. to *Disocactus*, which consisted of a total of 15 species. The diagnostic characteristics of the genus recognized by Lindley (1845) were lost (e.g. flat or ribbed stems, stems with or without spines, large or small flowers with intense or white colouration, a thick pericarpel with ribs and spines or one that is thin and bare), which generated uncertainty about the relationship with *Pseudorhypsalis*. For example, Barthlott (1991a, b) recognized *Pseudorhypsalis* as a separate genus based on its small white flowers and the smaller size of its pollen grains. Kimnach (1993) restricted the limit of the genus and believed that the species included in *Disocactus* should exhibit a flower with a narrow receptacle without conspicuous podaria and without spines or hairs. Therefore, he included *Pseudorhypsalis* because he believed that its morphological characteristics were insufficient to maintain it in a separate genus (Table 1).

The most recent classification by Hunt & al. (2006) revisits Barthlott's proposal (1991a, b) and the taxonomic changes made by Bauer (2003). These authors recognized 11 species of *Disocactus* that exhibit intensely coloured flowers (yellow to red) and diurnal flowering. They transferred *D. amazonicus* (K. Schum.) D. R. Hunt to the genus *Pseudorhypsalis*, and certain species or varieties were classified as subspecies (Bauer 2003).

Various subgenera or sections have been recognized within *Disocactus*. Barthlott (1991a) grouped the species in *D.* subg. *Ackermannia* (K. Schum.) Barthlott, *D.* subg. *Aporocactus* (Lem.) Barthlott, *D.* subg. *Disocactus*, *D.* subg. *Nopalxochia* (Britton & Rose) Barthlott and *D.* subg. *Wittia* Barthlott (Table 2; Fig. 1). Among these subgenera, *D.* subg. *Disocactus* and *D.* subg. *Wittia* are characterized by flat stems and a bare or nearly bare pericarpel; the difference between these two subgenera is the size of the flower. In *D.* subg. *Wittia* the flowers are short in length (2.5–3 cm) and the stamens are inserted in two series, whereas in *D.* subg. *Disocactus* the flowers are larger (3–6 cm), and the stamens are inserted in one series. In the remaining subgenera, the pericarpel exhibits spines, scales or visible areoles. In particular, *D.* subg. *Aporocactus* exhibits stems with 8–11 ribs, areoles

Table 2. Summary of infrageneric groups in *Disocactus* according to recent taxonomic studies.

Barthlott (1991a)	Kimnach (1993)	Hunt & al. (2006)
Subgenera:	Sections:	Subgenera:
Ackermannia	Disocactus	Ackermannia
<i>D. ackermannii</i>	<i>D. biformis</i>	<i>D. ackermannii</i>
<i>D. aurantiacus</i>	<i>D. eichlamii</i>	<i>D. macdougallii</i>
<i>D. cinnabarinus</i>	<i>D. nelsonii</i>	<i>D. speciosus</i>
<i>D. schrankii</i>	<i>D. quezaltecus</i>	
<i>D. speciosus</i>		Aporocactus
	Macranthi	<i>D. flagelliformis</i>
Aporocactus	<i>D. macranthus</i>	<i>D. martianus</i>
<i>D. flagelliformis</i>		
<i>D. martianus</i>	Pseudorhipsalis	Disocactus
	<i>D. acuminatus</i>	<i>D. biformis</i>
Disocactus	<i>D. alatus</i>	<i>D. eichlamii</i>
<i>D. biformis</i>	<i>D. himantocladus</i>	<i>D. macranthus</i>
<i>D. eichlamii</i>	<i>D. horichii</i>	<i>D. nelsonii</i>
<i>D. macranthus</i>	<i>D. lankesteri</i>	<i>D. quezaltecus</i>
<i>D. nelsonii</i>	<i>D. ramulosus</i>	
<i>D. quezaltecus</i>		Nopalxochia
Nopalxochia	Wittia	<i>D. phyllanthoides</i>
<i>D. macdougallii</i>	<i>D. amazonicus</i>	
<i>D. phyllanthoides</i>		
Wittia		
<i>D. amazonicus</i>		

with spines and slightly zygomorphic flowers measuring 7–10 cm. Conversely, the stems in *D.* subg. *Ackermannia* have fewer ribs (3–7), are rarely flat, and exhibit areoles with spines and actinomorphic or slightly zygomorphic flowers measuring 8–20 cm. *Disocactus* subg. *Nopalxochia* displays flat stems, areoles with or without spines, and pale pink actinomorphic flowers measuring 8–10 cm. Kimnach (1993) recognized four sections: *D.* sect. *Disocactus*, *D.* sect. *Macranthi* Kimnach, *D.* sect. *Pseudorhipsalis* (Britton & Rose) Kimnach and *D.* sect. *Wittia* Kimnach. Both *D.* sect. *Disocactus* and *D.* sect. *Wittia* exhibit erect or expanded tepals up to the middle section of the flower and the stamens are inserted in two series. However, the apex of the tepals in *D.* sect. *Wittia* is tinted blue and the stamens are nearly exerted, with thin filaments, whereas the tepals in *D.* sect. *Disocactus* range from pink to purple and the stamens are exerted, with thick filaments. Conversely, *D.* sect. *Macranthi* and *D.* sect. *Pseudorhipsalis* share tepals that are expanded from the base, with stamens inserted in a series. Nevertheless, *D.* sect. *Macranthi* may display more than one flower (5–6 cm) per areole, and the nectary occupies two-thirds of the floral length, whereas in *D.* sect. *Pseudorhipsalis* the flowers are small (less than 3 cm), with one flower emerging per areole and a small nectary (one-third of the floral length). Finally, Hunt & al. (2006) recognized four of the subgenera (*D.* subg. *Ackermannia*, *D.* subg. *Aporocactus*, *D.* subg. *Disocactus* and *D.* subg. *Nopalxochia*) proposed by Barthlott (1991a) (Table 2; Fig. 1).

The relationship between *Disocactus* and the remainder of cacti from the tribe *Hylocereeae* has not yet been examined in depth. Britton & Rose (1923) proposed that *Disocactus* and *Epiphyllum* Haw., along with seven other genera (*Chiapasiasia*, *Eccremocactus* Britton & Rose, *Epiphyllanthus* A. Berger, *Nopalxochia*, *Schlumbergera* Lem., *Wittia* and *Zygocactus* K. Schum.), comprise the subtribe *Epiphyllinae*, which, according to these authors, is characterized by the presence of phylloclades (with a cylindrical base) that are primarily free of spines and develop regular flowers. However, Buxbaum (1958) proposed that *Disocactus*, *Pseudorhipsalis* and five other genera (*Bonifazia*, *Chiapasiasia*, *Lobeira* Alexander, *Nopalxochia* and *Wittia*) comprise the subtribe *Disocactinae*, which is characterized by phylloclades that branch from cylindrical stems, brightly coloured flowers with a diurnal anthesis, a scaly pericarpel that is nearly bare and a generally scaly receptacle tube. Under the most recent classification (Hunt & al. 2006), *Disocactus* is a member of the tribe *Hylocereeae*, which also includes *Epiphyllum*, *Hylocereus* (A. Berger) Britton & Rose, *Pseudorhipsalis*, *Selenicereus* (A. Berger) Britton & Rose and *Weberocereus* Britton & Rose. The results of recent phylogenetic studies are partial and ambiguous (Nyffeler 2002; Arias & al. 2005; Bárcenas & al. 2011; Hernández-Hernández & al. 2011). However, all agree that *Disocactus* is resolved within a clade that corresponds to the tribe *Hylocereeae*, but its exact position is uncertain.

Recently, phylogenetic analyses based on DNA sequences have tested the relationships between the taxa and, consequently, their actual delimitations. Increasing evidence based primarily on chloroplast molecular markers indicates that some tribes and genera that had been delimited using only morphological data are not monophyletic, such as *Grusonia* Rchb. f. ex Britton & Rose (Griffith 2002), *Pachycereus* (A. Berger) Britton & Rose (Arias & al. 2003), *Mammillaria* Haw. (Butterworth & Wallace 2004), *Peniocereus* (A. Berger) Britton & Rose (Arias & al. 2005), *Pereskia* Mill. (Edwards & al. 2005), *Rebutia* K. Schum. (Ritz & al. 2007), *Pfeiffera* Salm-Dyck (Korotkova & al. 2010), *Echinopsis* Zucc. (Schlumberger & Renner 2012), *Ferocactus* Britton & Rose and *Turbinicarpus* Buxb. & Backeb. (Vázquez-Sánchez & al. 2013). Phylogenetic analyses including sequences from *Disocactus* have been unable to clearly establish the monophyly of the genus or its relationships with the other members of *Hylocereeae* because these analyses were not intended to discern the phylogenetic relationships of this genus (Nyffeler 2002: three spp.; Bárcenas & al. 2011: ten spp.; Hernández-Hernández & al. 2011: eight spp.), and sample sizes were insufficient. In the topologies produced by Nyffeler (2002) and Bárcenas & al. (2011), only one sister relationship was recovered between *Hylocereus* and *Selenicereus*, whereas *Disocactus* formed part of the polytomy of the tribe *Hylocereeae*. However, in the analyses performed by Hernández-Hernández & al. (2011), *Epiphyllum* diverged early within *Hylocereeae*, whereas



Fig. 1. Selected species of *Disocactus* and related genera – A: *Disocactus ackermannii*, Mexico, Oaxaca, M. Á. Cruz 10 (MEXU); B: *D. speciosus* subsp. *heterodoxus*, Mexico, Chiapas, S. Arias 1666 (MEXU); C: *D. aurantiacus* El Salvador, Santa Ana, G. Cerén 2580 (MHES); D: *D. speciosus* subsp. *speciosus*, Mexico, cultivated at Jardín Botánico UNAM; E: *D. speciosus* subsp. *bierianus*, Mexico, Guerrero, G. A. Salazar 6564B (MEXU); F: *D. crenatus* subsp. *crenatus*, Guatemala, Quetzaltenango, S. Arias 1178 (MEXU); G: *D. macranthus*, Mexico, Veracruz, M. Á. Cruz 7 (MEXU); H: *D. biformis*, Guatemala, Sacatepequez, M. Veliz 23600 (BIGU); I: *D. phyllanthoides*, Mexico, Veracruz, S. Arias 2201 (MEXU); J: *D. lepidocarpus*, Costa Rica, Alajuela, B. Hammel 25624 (INB); K: *Pseudorhipsalis amazonica*, Costa Rica, Guanacaste, B. Hammel 24524 (INB); L: *Aporocactus flagelliformis*, Mexico, Veracruz, M. Á. Cruz 1 (MEXU).

Disocactus was a sister to the clade that includes the genera *Hylocereus*, *Selenicereus* and *Weberocereus*.

Due to the above issues and the discrepancy between taxonomists regarding the number of species within *Disocactus* (Table 1) caused by poor morphological delimitation of the genus, the question arises of whether *Disocactus* is monophyletic. The objectives of this study were threefold: (1) to carry out a phylogenetic reconstruction of the genus *Disocactus* using six chloroplast molecular markers (*matK*, *psbA-trnH*, *rpl16*, *trnL-F*, *trnQ-rps16* and *ycf1*) to evaluate whether *Disocactus* and the subgenera recognized by Hunt & al. (2006; *D.* subg. *Ackermannia*, *D.* subg. *Aporocactus*, *D.* subg. *Disocactus* and *D.* subg. *Nopalxochia*) are monophyletic groups; (2) to understand the position of *Disocactus* within *Hylocereeae*; and (3) to generate a taxonomic proposal for *Disocactus* based on these results.

Material and methods

Taxon sampling

The present study included ten of the 11 species of *Disocactus* according to the classification proposed by Hunt & al. (2006) and incorporated a comprehensive sampling of ten terminals for five subspecies of *D. speciosus* (Cav.) Barthlott and two for *D. ackermannii* (Haw.) Ralf Bauer, *D. biformis* (Lindl.) Lindl., *D. macranthus* (Alexander) Kimnach & Hutchinson and *D. phyllanthoides* (DC.) Barthlott. Representatives from *Epiphyllum*, *Hylocereus*, *Pseudorhypsalis*, *Selenicereus* and *Weberocereus* were included to test the monophyly of the genus because they were recovered as part of a single clade in previous phylogenies (Nyffeler 2002). Outgroups were sampled based on previous phylogenetic analyses of the family (Nyffeler 2002; Arias & al. 2005; Hernández-Hernández & al. 2011) and included representative species of *Acanthocereus* Britton & Rose (Lodé 2013), *Lemaireocereus* Britton & Rose and *Pereskia*. This study involved 315 new sequences; their voucher information and GenBank accession numbers are listed in the Appendix.

Amplification and sequencing

Phylogenetic reconstructions for *Cactaceae* have mainly employed chloroplast molecular markers. Nuclear markers suitable for cacti have yet to be developed because the existing nuclear markers provide a lower number of informative sites compared with chloroplast markers, and they do not exhibit polymorphism as has been shown for ITS in other groups of cacti, e.g. *Lophocereus* (A. Berger) Britton & Rose (Hartmann & al. 2001), *Mammillaria* (Harpe & Peterson 2006), *Hylocereus* and *Selenicereus* (Plume & al. 2013). A combination of different chloroplast markers is necessary to increase the resolution of the phylogeny (Korotkova & al. 2010). Within the diverse chloroplast markers, it has been proposed that introns outperform

spacers and coding regions in terms of phylogenetic utility (introns > spacer sequences > coding regions) (Korotkova & al. 2011). Six molecular markers were used: two introns (*rpl16* and *trnL-F*), two spacers (*psbA-trnH* and *trnQ-rps16*) and two coding regions (*matK* and *ycf1*).

Collected samples were dried with silica gel and stored at -20°C . Total DNA was extracted using the EZ-10 Spin Column Plant Genomic DNA Minipreps kit (Bio Basic Inc., Ontario, Canada) according to the manufacturer's protocol, but the incubation time in tissue lysis buffer was modified to 120 minutes. Total DNA was stored at -20°C . Specific regions were amplified using a standard polymerase chain reaction (PCR) protocol in a total volume of 25 μL containing 2.5 μL of 10 \times buffer, 0.5 μL of dNTPs (10 mM), 1 μL of BSA, 0.3 μL of each primer (10 mM), 0.75 μL of MgCl_2 , 0.125 μL of Taq, 19.125 μL of DEPC-treated water and 0.75 μL of DNA. The *matK* exon was amplified using the primers *matK_3F_kim* and *matK_1R_kim* (CBOL Plant Working Group, 2009) by initially denaturing the DNA for 2 min at 94°C , followed by 30 cycles of 30 s at 94°C , 40 s at 48°C and 40 s at 72°C , with a final extension of 7 min at 72°C . The *rpl16* intron was amplified using the primers *rpl161F* and *rpl163R* (Hernández-Hernández & al. 2011) by initially denaturing the DNA for 5 min at 94°C , followed by 26 cycles of 1 min at 94°C , 50 s at 55°C and 2 min at 72°C , with a final extension of 4 min at 72°C . The *trnL-trnF* region was amplified using the primers "C" and "F" designed by Taberlet & al. (1991). The PCR programme employed for this region consisted of 2 min at 94°C , 29 cycles of 30 s at 94°C , 30 s at 52°C and 1 min at 72°C , and a final extension of 7 min at 72°C . The *psbA-trnH* intergenic spacer was amplified using the primers *psbA* (Sang & al. 1997) and *trnH* (Tate & Simpson 2003), with initial denaturation of the DNA for 2 min at 94°C , followed by 29 cycles of 30 s at 94°C , 30 s at 52°C and 1 min at 72°C , and a final extension of 7 min at 72°C . The *trnQ-rps16* intergenic spacer was amplified using the primers *trnQ2* (Korotkova & al. 2010) and *rps16x1* (Shaw & al. 2007), with initial denaturation of the DNA for 2 min at 95°C , followed by 35 cycles of 30 s at 95°C , 1 min at 55°C and 1 min at 72°C , and a final extension of 10 min at 72°C . The *ycf1* region was amplified using the primers *ycf1-4182F* and *ycf1-5248R* (Franck & al. 2012), with initial denaturation of the DNA for 3 min at 94°C , followed for 35 cycles of 1 min at 94°C , 1 min at 50°C and 2 min at 72°C , and a final extension of 5 min at 72°C . The unpurified PCR products were sequenced at the University of Washington (UW-High Throughput Genomics Center, <http://www.htseq.org/>). All regions were sequenced using amplification primers. Sequence assembly and editing was carried out using Sequencher 4.8 (GeneCode).

Phylogenetic analysis

The sequences were aligned using MAFFT (Kato & al. 2002), and the alignments were then manually inspected. In all of the alignments, the extremes were eliminated

Table 3. Phylogenetic analysis characteristics and numerical results for each sequence data set and the combined data set.

	<i>rpl16</i>	<i>trnL-F</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnQ-rps16</i>	<i>matK</i>	<i>ycf1</i>	all regions
No. of characters in matrix	1210	1129	543	659	814	1378	5853
% of A+T	70	69	70	69	66	69	69
% of G+C	30	31	30	31	34	31	31
No. of variable characters	128	97	53	61	33	353	725
No. of parsimony-uninformative characters	88	54	30	39	26	151	388
No. of parsimony-informative characters	40	43	23	22	7	202	411
No. of hotspots	3	7	4	4	0	0	18
No. of inversions	1	0	0	0	1	0	2
No. of coded indels	21	30	24	13	0	34	122

due to the presence of ambiguities. Insertions and deletions (indel) were coded following the simple indel coding method suggested by Simmons & Ochoterena (2000) using the Indel Coder option of SeqState v. 1.40 (Müller 2005). Maximum parsimony (MP) phylogenetic analyses were carried out for each of the markers to demonstrate their congruence (trees with similar topologies) and concatenate them in a single matrix and to identify markers that maximize the resolution of the tree. MP phylogenetic analysis with the concatenated marker matrix without hotspots (highly variable regions) was carried out using PAUP (Swofford, 2002). A heuristic search with 15 000 replicates was conducted; the tree bisection and reconnection (TBR) branch-swapping algorithm was employed, and *Pereskia lychnidiflora* DC. was designated as an outgroup. A second MP phylogenetic analysis was performed with the concatenated marker matrix and coded indels and without hotspots using the above parameters. For branch support, 10 000 jackknife (JK) replicates and 10 000 bootstrap (BS) replicates were employed. Bayesian inference (BI) analysis was carried out using MrBayes 3.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001). The data were partitioned, and each partition used GTR+I+G as a substitution model, pursuant to the results obtained with jModeltest2 (Darriba & al. 2012). Two independent runs were conducted with four chains each, and six million generations were run, with the chains sampled every 1000 generations. Chain convergence was observed using Tracer (Rambaut & Drummond 2009). The first 20 % of trees were discarded as the burn-in. The remaining trees were then used to build a 50 % majority rule consensus tree. The alignment is available at <http://purl.org/phylo/treebase/phylo/ycf1/study/TB2:S18804>.

Results

Six markers were amplified for all ingroup and outgroup species, with two exceptions: *rpl16* was not obtained for *Epiphyllum lepidocarpum* (F. A. C. Weber) Britton & Rose, and *ycf1* was not obtained for *E. pumilum* Brit-

ton & Rose and *E. thomasianum* (K. Schum.) Britton & Rose. The aligned matrix of the six concatenated plastid sequences and the coded indels was 5853 bp in length, only 14 % of which consisted of variable sites, and half of those variable sites were parsimony-informative (PI) sites (411). The cytosine-guanine content was lower than the adenine-thymine content. Four markers presented regions that were difficult to align; these regions corresponded to polyA or polyT sequences. In the *rpl16* intron, an inversion was identified in the sequences of *Disocactus flagelliformis* (L.) Barthlott, *D. martianus* (Zucc.) Barthlott and all of the sequences of *Acanthocereus*, *Hylocereus*, *Lemaireocereus*, *Peniocereus*, *Selenicereus* and *Weberocereus*. The *ycf1* region contributed 41 % of the observed indels, whereas the *psbA-trnH* spacer contributed 29 % of the indels, despite being a short region. This characteristic is directly related to the disparity in the length of the marker sequence (Table 3). The results obtained from the MP and BI analyses were congruent; the same number of clades was recovered with high branch support. MP and BI yielded trees with similar, although not identical, topologies, due to the degree of resolution that each method provides.

Using the MP criteria, 57 equally parsimonious trees were obtained, with a length (L) of 1296 steps, showing a consistency index (CI) of 0.72 and a rescaled consistency (RC) index of 0.57. The strict consensus tree recovered three main groups. The H1 group includes clades D (95 % JK, 95 % BS), P (100 % JK, 100 % BS) and E (100 % JK, 100 % BS), whereas the H2 group consists of clades A (100 % JK, 100 % BS) and HSW (100 % JK, 100 % BS), and the H3 group includes three species of *Acanthocereus* (100 % JK, 100 % BS) (Fig. 2). Clade D defines the genus *Disocactus* and contains eight species previously classified therein plus three species of *Epiphyllum*, which are recovered in two subclades with moderate or no support. Subclade 3D (97 % JK, 86 % BS) is sister to the remaining included species, whereas subclade 2D (100 % JK, 100 % BS) forms part of the second divergent event in the genus. Subclade 1D (– JK, – BS) is the last to diverge and includes four species. *Epiphyllum anguliger* (Lem.) H. P. Kelsey & Dayton was recovered as sister species of sub-

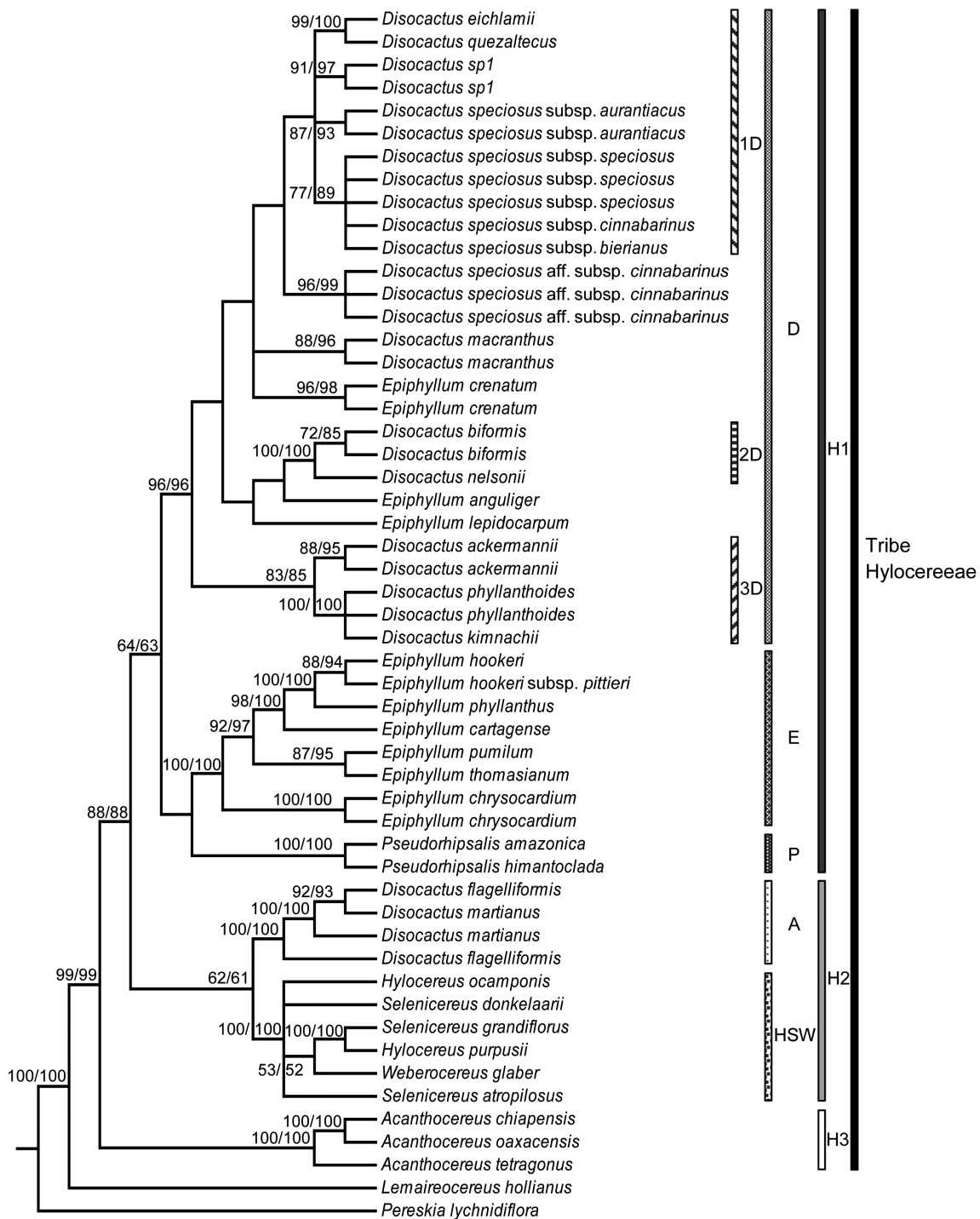


Fig. 2. Strict consensus tree (maximum parsimony analysis) of the combined cpDNA sequence data. Numbers given at branches are jackknife (JK) and bootstrap (BS) support values. Bars and acronyms indicate the main groups discussed in the text.

clade 2D and *E. lepidocarpum* was recovered as a sister taxon to this relationship; however, both hypotheses lack support. *Epiphyllum crenatum* (Lindl.) G. Don is nested between the previous relationship and subclade 1D. *Disocactus speciosus* (ten terminals) was the only species recovered as non-monophyletic. Clade P, which includes two species of *Pseudorhipsalis*, and clade E, which consists of six species of *Epiphyllum* whose relationships

exhibit moderate-to-high support, form a sister clade to *Disocactus* (Fig. 2).

The BI analysis showed that the H1, H2 and H3 groups were recovered with high support (Fig. 3). Two subclades were recovered in addition to the three subclades observed in the MP analysis. Subclade 4D consists of *Disocactus macranthus* and *Epiphyllum crenatum*, with 0.63 PP support. Subclade 5D includes *E. anguliger*

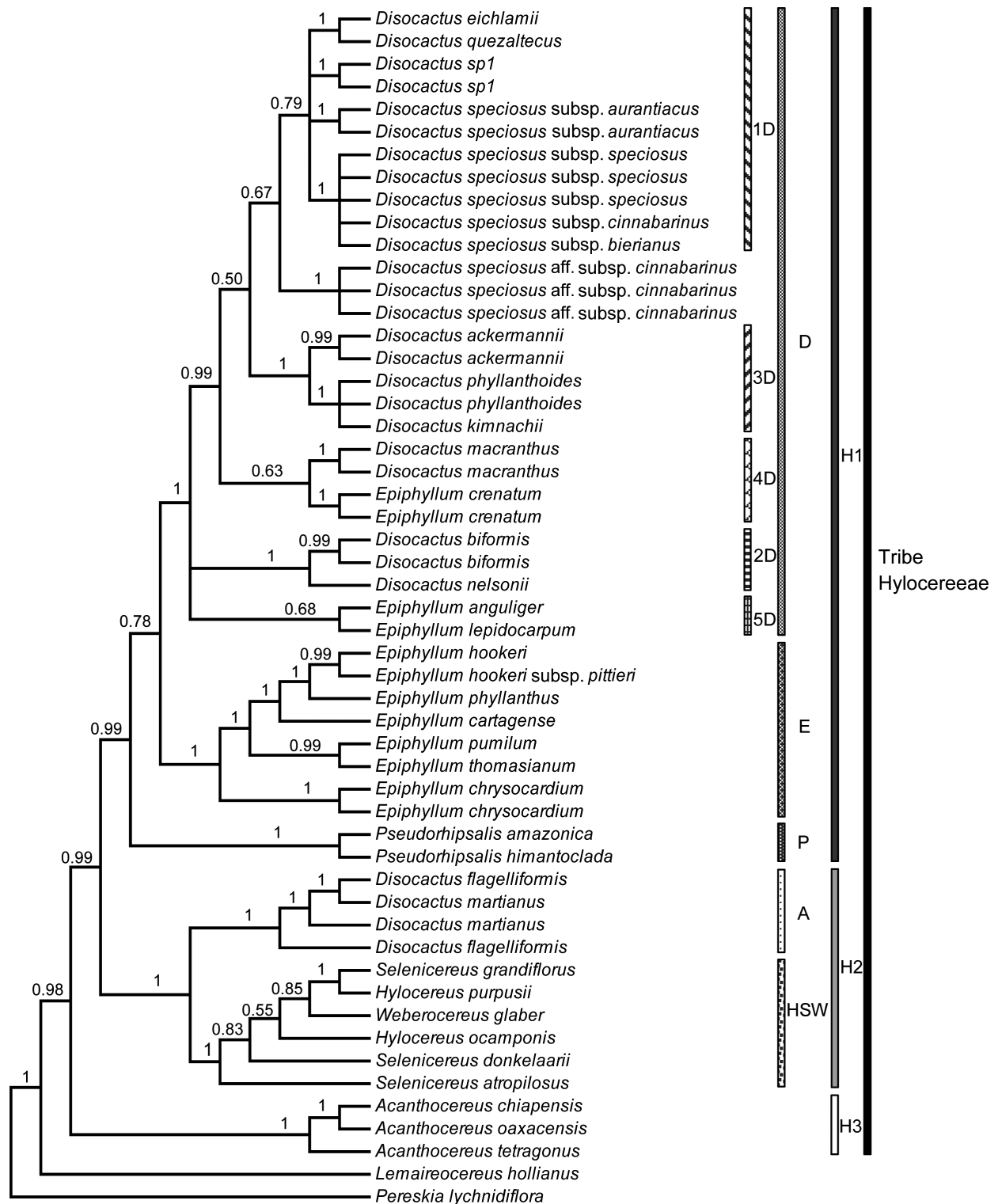


Fig. 3. Majority rule consensus tree (Bayesian MCMC analysis) of the combined cpDNA sequence data. Numbers given at branches are Bayesian posterior probability (PP) support values. Bars and acronyms indicate the main groups discussed in the text.

and *E. lepidocarpum*, with a support of 0.68 PP, and forms part of the basal polytomy along with subclade 2D. Unlike MP, subclade 3D in the BI analysis is recovered between subclades 1D and 4D. In addition, within the H1 group, clade E is sister to clade D (0.78 PP) and clade P is sister to both clades E and D (0.99 PP).

The H1 group in both reconstructions is supported by four molecular synapomorphies, three of which correspond to substitutions and one to an indel. Clade D is defined by a single combination of seven synapomorphies, six of which are substitutions (*matK*, *trnQ-rps16*, *rpl16* and *ycf1*) and one is an indel (*rpl16*). Moreover,

Table 4. Molecular characters that support clades.

	No. of characters	Character type, marker and position in alignment
Group <i>Epiphyllinae</i>	4	substitutions: <i>trnQ-rps16</i> (1066), <i>rpl16</i> (3795), <i>ycf1</i> (5259); 1 indel: <i>trnL-F</i> (2104–2116)
Clade <i>Disocactus</i> s.str.	7	substitutions: <i>matK</i> (706), <i>trnQ-rps16</i> (934), <i>trnL-F</i> (2438), <i>rpl16</i> (3562, 3861), <i>ycf1</i> (4434); 1 indel: <i>rpl16</i> (3866–3870)
Clade <i>Epiphyllum</i>	12	substitutions: <i>trnQ-rps16</i> (941), <i>psbA-trnH</i> (1602, 1735, 1798), <i>trnL-F</i> (2987), <i>ycf1</i> (4600, 5424, 5470, 5526); 3 indels: <i>psbA-trnH</i> (1760–1789), <i>trnL-F</i> (3115–3122), <i>rpl16</i> (3809–4162)
Clade <i>Pseudorhopsalis</i>	23	substitutions: <i>matK</i> (214), <i>trnQ-rps16</i> (930, 1431), <i>psbA-trnH</i> (1867), <i>trnL-F</i> (2471, 2767), <i>rpl16</i> (3212, 3359, 3554, 3881, 3911), <i>ycf1</i> (4790, 4923, 5272, 5339, 5430, 5460, 5587, 5643, 5645); 3 indels: <i>rpl16</i> (3880–3920), <i>ycf1</i> (4456–4458, 5049–5054)
<i>Disocactus eichlamii</i> <i>Disocactus quezaltecus</i>	6	substitutions: <i>matK</i> (241), <i>trnQ-rps16</i> (1053), <i>psbA-trnH</i> (1947), <i>rpl16</i> (4064); 2 indels: <i>psbA-trnH</i> (1916–1925, 1926–1946)
<i>Disocactus biformis</i> <i>Disocactus nelsonii</i>	4	substitutions: <i>ycf1</i> (4884); 3 indels: <i>psbA-trnH</i> (1654–1827) <i>trnL-F</i> (2128–2132, 3057–3068)
<i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>aurantiacus</i>	3	1 substitution: <i>ycf1</i> (4757); 2 indel: <i>psbA-trnH</i> (1749–1958), <i>rpl16</i> (3386–3386)
<i>Disocactus heterodoxus</i>	2	indel: <i>psbA-trnH</i> (1774–1838), <i>ycf1</i> (4658–4678)

12 synapomorphies support clade E (*Epiphyllum*), nine of which are substitutions and three are indels; the largest number of synapomorphies occurs in clade P (*Pseudorhopsalis*), 20 of which are substitutions and three are indels (Table 4).

Discussion

Our phylogenetic analyses did not recover *Disocactus* or the subgenera recognized by Hunt & al. (2006) as monophyletic. One group of 11 species of *Disocactus* belongs to the H1 group, which includes *D. biformis* (type species) and is defined here as *Disocactus* s.str., whereas the two analysed species of *D.* subg. *Aporocactus* are nested in the H2 group. Therefore, the genus *Aporocactus* should be re-established, and *Disocactus* must be re-circumscribed (see below). Based on its placement in group H1, *Disocactus* is more closely related to *Epiphyllum* and *Pseudorhopsalis* than to the remaining genera of *Hylocereae*, as discussed below.

The contribution of the the markers and coded indels

The region *matK* provided the lowest number of informative sites. This region was also less variable in other groups of *Cactaceae*, such as in the genus *Pfeiffera* (Korotkova & al. 2010), the tribe *Rhopsalideae* (Korotkova & al. 2011) and the tribe *Cacteae* (Vázquez-Sánchez & al. 2013). Two sites supported the relationships at the genus level (214 for the genus *Pseudorhopsalis*, 706 for the genus *Disocactus*; Table 4), which shows that *matK* may, to a lesser degree, contribute information to resolve relationships at the genus level and not only at the family level. Conversely, markers with high evolu-

tionary rates, such as the introns *rpl16* and *trnL-F* and the spacer regions *psbA-trnH* and *trnQ-rps16* (Borsch & Quandt 2009; Korotkova & al. 2011), provided 31 % of informative sites and allowed the establishment of relationships at primarily the genus and species levels in the genera *Epiphyllum* and *Pseudorhopsalis*. The region *ycf1* contributed 49 % of informative sites. This region is also highly variable in other groups of cacti, such as *Opuntia* (L.) Mill. (Majure & al. 2012), *Harrisia* Britton (Franck & al. 2013) and *Copiapoa* Britton & Rose (Larridon & al. 2015). The region *ycf1* produced the tree with the highest resolution, supporting the relationships at the genus and species levels; however, it did not individually resolve the relationships between close species. Moreover, the coded indels provided 13 % of the PI sites. The incorporation of coded indels in phylogenetic reconstructions is a frequent practice in *Cactaceae* (e.g. Nyffeler 2002; Butterworth & Wallace 2004; Korotkova & al. 2010, 2011; Calvente & al. 2011a, b; Franck & al. 2013; Vázquez-Sánchez & al. 2013; Bonatelli & al. 2014). Furthermore, their inclusion improved the resolution and support values for the tree compared with the tree that did not include the coded indels (data not shown), as previously suggested (Simmons & al. 2001).

Genus *Disocactus* s.str.

Based on our results, *Disocactus* consists of 13 known species, including *Epiphyllum anguliger*, *E. crenatum* and *E. lepidocarpum* (Fig. 2, 3). None of the three subgenera recognized by Hunt & al. (2006) (Table 2) was recovered; however, three subclades were recognized with some support and three sister species relationships were observed. Subclade 1D includes the relationship between *D. eichlamii* (Weing.) Britton & Rose and *D.*

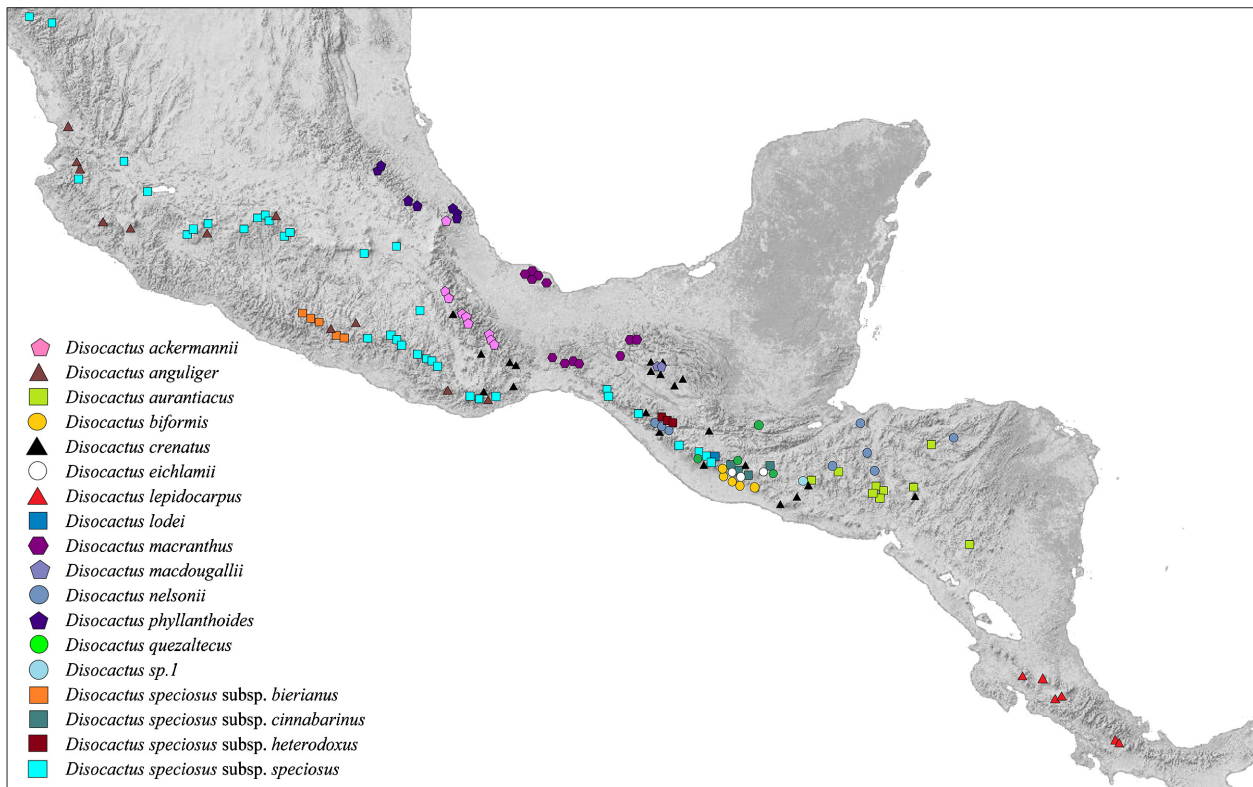


Fig. 4. Geographical distribution of *Disocactus* taxa based on georeferenced specimen records.

quezaltecus (Standl. & Steyerl.) Kimmach, with strong support (99% JK, 100% BS MP; 1 PP BI) and corroborates the hypothesis suggested by Kimmach (1959, 1993) of the closeness of these two species based on exhibiting flowers with straight tepals and exerted stamens and styles. Moreover, *D. speciosus* was not recovered as a monophyletic species. *Disocactus speciosus* subsp. *bierianus* Ralf Bauer, subsp. *cinnabarinus* (Eichlam ex Weing.) Ralf Bauer and subsp. *speciosus* form a group with moderate support (77% JK, 89% BS MP; 1 PP BI; Fig. 2, 3), and a poor resolution is observed within this group, which we consider to be a reflection of the morphological issues presented by the species. Our results partially support the proposal of Bauer (2003), as only three of the five subspecies were recovered in the clade mentioned above. The variability of the stems, spines and flowers shown by these three subspecies is high, and they are only distinguished by subtle morphological differences (Bauer, 2007). Their shared morphological characteristics include stems with rigid spines, large red or orange flowers (12–17 cm) and a pericarpel and receptacle tube with rigid spines. They are broadly distributed in W Mexico (Durango to Oaxaca) and C Guatemala (the Sierra de los Cuchumatanes), growing in *Pinus* forests and tropical montane cloud forest (Fig. 4). *Disocactus speciosus* subsp. *aurantiacus* (Kimmach) Ralf Bauer was not recovered as part of the group that includes the three subspecies mentioned above in either analysis (MP or BI) (Fig. 2, 3, subclade 1D). This position in the topologies is congruent with the morphological differences exhibited

by *D. speciosus* subsp. *aurantiacus*, which is characterized by flexible and pendulous stems as well as longer hairs, instead of spines, on the stems and flowers. This taxon is distributed in the tropical montane cloud forests of El Salvador, Honduras and Nicaragua (Fig. 4). Bauer (2003) included it in *D. speciosus* because it also exhibits ribbed stems and large flowers (12.5–15.5 cm). Although our results do not completely clarify the relationship of this taxon within subclade 1D (Fig. 2, 3), the molecular autapomorphies revealed in this study (substitution in *ycf1*, one indel in *psbA-trnH*, and *rpl16*; Table 4) in addition to the morphological characteristics listed above indicate that it should be recognized as a separate species, as was originally proposed (Kimmach 1974; Barthlott 1991a). Hunt & al. (2006) classified *D. speciosus* and *D. ackermannii* as part of *D. subg. Ackermannia* because they both develop large red or orange flowers (8–20 cm). However, we indicate herein that the recognized groups of *D. speciosus* are independently related, but never to *D. ackermannii* (Fig. 2, 3, subclades 1D, 3D).

In subclade 2D, *Disocactus bififormis* was recovered as a sister taxon to *D. nelsonii* (Britton & Rose) Lindling. with strong support (100% JK, 100% BS MP; 1 PP BI). These species share morphological characteristics including expanded external tepals, a scaly pericarpel and hairs measuring less than 0.5 cm, which allowed Kimmach (1993) to suggest the closeness of the species corroborated in this study. *Disocactus bififormis*, *D. eichlamii*, *D. nelsonii* and *D. quezaltecus* are native to Guatemala, Honduras and Mexico (Chiapas) and are exclusive

to tropical montane cloud forests (Fig. 4). Although these four species are included in the section or subgenus *Disocactus* (Table 2) because they share phylloclades, flowers, and fruits without spines, our results reveal that they do not form a clade. Five indels (two in *trnL-F* and three in *psbA-trnH*) plus five substitutions (one in *matK*, one in *psbA-trnH*, *trnQ-rps16*, *rpl16* and *ycf1*) maintain the two groups in independent subclades (Table 4; Fig. 2, 3).

Subclade 3D supports the relationship among *Disocactus ackermannii*, *D. ×kimmachii* G. D. Rowley and *D. phyllanthoides* (97% JK, 86% BS MP; 1 PP BI; Fig. 2, 3), in contrast to the proposal made by Hunt & al. (2006). These authors believed *D. ackermannii* to be more closely related to *D. macdougallii* (Alexander) Barthlott (not included in this analysis) and *D. speciosus*, which together comprise *D. subg. Ackermannia*, whereas *D. phyllanthoides* was maintained in *Nopalxochia* (Table 2). However, we identified a relationship that was more consistent with the taxonomic treatment by Bravo-Hollis (1978): with the exception of *D. ×kimmachii* (a taxon not recognized as a species by Hunt & al. 2006), the two remaining species and *D. macdougallii* comprise the genus *Nopalxochia*. *Disocactus ackermannii* and *D. phyllanthoides* are native to tropical montane cloud forests in E and S Mexico (Veracruz to Chiapas; Fig. 4), whereas *D. ×kimmachii* is found only in Costa Rica. The initial hypothesis about the origin of *D. ×kimmachii* proposed that it is a hybrid between a member of *Heliocereus* or *Nopalxochia* and *Epiphyllum crenatum* (Kimmach 1984), whereas a subsequent hypothesis suggested that the putative parents include *Epiphyllum crenatum* subsp. *kimmachii* (Bravo ex Kimmach) U. Guzmán and a member of the group “*Heliocereus*” (Bauer 2003). Under this proposal and according to our results, *D. phyllanthoides* may be one of the parents. The three taxa are characterized by stems that branch close to the base, a pericarpel and receptacle tube with colourful scales that increase in size towards the perianth, and areoles with trichomes and flexible spines.

Three terminals of *Disocactus speciosus* aff. subsp. *cinnabarinus* from Chiapas (Mexico) were recovered with strong support (96% JK, 99% BS, MP; 1 PP BI; Fig. 2, 3). Neither the MP nor BI analysis recovered this taxon as part of *D. speciosus*, where the terminal from *D. speciosus* subsp. *cinnabarinus* from Chimaltenango (Guatemala) is nested, close to the type locality (Weingart 1910). The terminals from Chiapas (Arias 1666, Cruz 18, Cruz 22) were initially identified as *D. speciosus* subsp. *cinnabarinus* due to their shared floral morphology (Bravo-Hollis 1978; Bauer 2003), and it was even indicated that the observed differences were due to variations between populations (Bauer 2007). However, the adult stems of the Chiapas samples exhibit a consistent difference in the presence of phylloclades. This morphological difference was observed by Standley & Steyermark (1944) and was used as a basis for describing *Heliocereus heterodoxus* Standl. & Steyermark for the region limited by the Tacana Volcano

between Mexico (Chiapas) and Guatemala (San Marcos). We identified two indels in the markers *psbA-trnH* and *ycf1* (Table 4) that are exclusive to these three terminals. Based on these molecular characteristics and the morphological difference mentioned above, we believe that the three terminals do not correspond to *D. speciosus* subsp. *cinnabarinus*; therefore, we propose that it be recombined as *D. speciosus* subsp. *heterodoxus* (Standl. & Steyermark) M. Á. Cruz & S. Arias.

Epiphyllum anguliger, *E. crenatum* and *E. lepidocarpum* were recovered as part of *Disocactus* s.str. with strong support (Fig. 2, 3). This relationship is supported by seven shared substitutions, which we recognize as the molecular synapomorphies of the clade *Disocactus* (Table 4). The results do not allow discrimination of the closest relationships between these three species within *Disocactus* because the two topologies (MP and BI) are incongruent. However, we may recognize a possible relationship between *E. crenatum* and subclade 3D, which includes *Nopalxochia* sensu Bravo-Hollis (1978). This hypothesis is based on the shared presence of scales on the pericarpel and the receptacle tube, which are larger towards the perianth, as well as flexible spines. The generation of hybrids has also been reported for both species (*D. ackermannii* & *D. phyllanthoides*) (Anderson 2005). In addition, the distribution of *E. crenatum* complements the species of subclade 3D in México (Veracruz, Oaxaca and Chiapas), although *E. crenatum* extends towards Guatemala and Honduras. Although the relationship between *E. anguliger* and *E. lepidocarpum* is uncertain, the flexible spines observed on the stems and flowers with two sets of stamens are morphological characters shared with *Disocactus* (Bauer 2009). *Epiphyllum anguliger* is distributed in W Mexico (Guerrero, Jalisco, Nayarit and Oaxaca), whereas *E. lepidocarpum* is native to Costa Rica (Fig. 4).

Disocactus and sister genera

The topology of both phylogenies (MP and BI) is highly congruent: the tribe *Hylocereeae* consists of three groups (Fig. 2, 3). The subtribe *Epiphyllinae*, as redefined here, includes the genera *Disocactus* (Clade D), *Epiphyllum* (Clade E) and *Pseudorhypsalis* (Clade P), whereas the subtribe *Hylocereinae* consists of *Aporocactus* (Clade A), *Hylocereus*, *Selenicereus* and *Weberocereus* (HSW). *Acanthocereus* represents the third group. This result is partially consistent with the subtribes proposed by Buxbaum (1958) and the clades recovered in the phylogenetic analyses of *Peniocereus* by Arias & al. (2005). The main difference between the two subtribes is that phylloclades are more common in *Epiphyllinae*, whereas ribs are more common in *Hylocereinae*. In addition, both phylogenies indicate that *Disocactus* is more closely related to *Epiphyllum* and *Pseudorhypsalis*.

Within the subtribe *Epiphyllinae*, *Disocactus* is never recovered as a sister genus to *Pseudorhypsalis*. In

the MP reconstruction, *Disocactus* is a sister to *Epiphyllum* and *Pseudorhipsalis*, whereas in the BI reconstruction, *Pseudorhipsalis* is sister to *Disocactus* and *Epiphyllum*. This classification is consistent with Bauer's argument (2002), which indicates that the distribution, habitat and certain morphological characteristics differ between *Pseudorhipsalis* and *Disocactus*. *Pseudorhipsalis* is distributed from Mexico to Bolivia, but its centre of diversity is found in Costa Rica and Panama, where it grows in low-elevation zones (below 650 m) and hot, humid regions. The primary stem of *Pseudorhipsalis* is easily distinguished from the secondary stem due to its cylindrical shape; its areoles are close-set, and its flowers are very small (0.7–2.5 cm), funnel-shaped or rotate and are characterized by a short flowering period. The flowers are not oriented towards the light, and the pollen is small (45–55 µm) and polycolpate. In contrast, *Disocactus* is distributed from NC Mexico to Nicaragua, where it grows in elevated (above 1200 m) tropical montane cloud forests. The primary stem of *Disocactus* may only be distinguished from the secondary stem in certain species; the distance between the areoles is greater; and the flowers may be small (5.5–6 cm) to large (16 cm) and funnel-shaped. The flowers spend several days in anthesis and are mainly oriented towards the light, which results in a curve in the receptacle tube when they grow on pendulous stems; the pollen is large (70–100 µm) and tricolpate. These morphological differences favour the hypothesis suggested in the BI analysis, in which *Disocactus* is the sister genus to *Epiphyllum*, which is distributed from Mexico to Argentina, although its greatest diversity is found between S Mexico and Costa Rica in low zones or at high elevation (0–2300 m) in hot and temperate regions (Bauer 2003). These two genera share phylloclades with a cylindrical base, flowers larger than 2.5 cm, and a scaly pericarpel and receptacle tube. Moreover, our results allow us to exclude *Aporocactus* from *Disocactus* and recognize it as an independent genus. Nevertheless, its relationship with the subtribe *Hylocereinae* merits its own study because only the BI phylogenetic analysis showed high support.

Based on the data from cpDNA sequences, this study provided significant evidence indicating that certain floral morphological characteristics that are used to delimit *Disocactus* have arisen more than once in *Hylocereae*. The diurnal, funnel-shaped and intensely coloured (reds and others) flowers are not exclusive to *Disocactus* (Fig. 1). Based on these data, we hypothesize a convergent origin for the nocturnal, long, funnel-shaped flowers with light colouration (white) found in *Disocactus* and *Epiphyllum*. Therefore, supplementary studies are required to clarify the relationship between *Disocactus* and its sister genera, as well as its possible origin within the subtribe *Epiphyllinae* (as it is recognized here). A comparative morphological study of vegetative (e.g. shape and succulence of cotyledons in seedlings; stem shape during the

juvenile stage) and reproductive structures (e.g. number of sets of stamens; seed size and micro-ornamentation) is needed to explore the observed synapomorphies and their transformation within the subtribe. The origin of the epiphytic growth within *Hylocereae* also needs to be explored based on climbing shape, including the change in stem growth from indeterminate to determinate. A top priority is to combine our molecular data with a set of morphological attributes in a total evidence analysis to corroborate the phylogenetic relationships obtained here and recover the currently unresolved terminal nodes. We also aim to understand the evolution of the highlighted characteristics in subtribe *Epiphyllinae*.

Taxonomy

Based on phylogenetic analysis presented here, the 14 species accepted in *Disocactus* are listed below. Five new combinations are included. In addition, one taxon of presumably hybrid origin is indicated (Kimmach 1984). An asterisk (*) marks taxa not available for molecular analysis.

1. *Disocactus ackermannii* (Haw.) Ralf Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 15. 2003 ≡ *Epiphyllum ackermannii* Haw. in Philos. Mag. Ann. Chem. 6: 109. 1829 ≡ *Cactus ackermannii* (Haw.) Lindl. in Edwards's Bot. Reg. 16: t. 1331. 1830 ≡ *Cereus ackermannii* (Haw.) Otto ex Pfeiff., Enum. Diagn. Cact.: 123. 1837 ≡ *Phyllocactus ackermannii* (Haw.) Salm-Dyck, Cact. Hort. Dyck.: 38. 1841 ≡ *Nopalxochia ackermannii* (Haw.) F. M. Knuth in Backeb. & F. M. Knuth, Kaktus-ABC: 161. 1935. – Lectotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 16. 2003): [illustration in] Lindley in Edward's Bot. Reg. 16: t. 1331. 1830.
- 1a. *Disocactus ackermannii* subsp. *ackermannii*
= *Epiphyllum ackermannii* f. *candidum* Alexander in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 19: 58. 1947 ≡ *Disocactus ackermannii* f. *candidus* (Alexander) Barthlott in Bradleya 9: 87. 1991. – Holotype: Mexico, Chiapas, cultivated plant in a garden in San Cristobal [de] Las Casas, 14 Apr 1945, *E. J. Alexander s.n.* (NY; isotypes: MEXU barcode 00123464!, P, US!).
- *1b. *Disocactus ackermannii* subsp. *conzattianus* (T. MacDoug.) Ralf Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 17. 2003 ≡ *Nopalxochia konzattianum* T. MacDoug. in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 19: 22. 1947 ≡ *Pseudonopalxochia konzattianum* (T. MacDoug.) Backeb., Cactaceae (Backeberg) 2: 757. 1959 ≡ *Nopalxochia ackermannii* var. *conzattianum* (T. MacDoug.) Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 53: 85. 1981 ≡ *Disocactus ackermannii* var. *conzattianus* (T. MacDoug.) Barthlott in Bradleya 9: 87 1991 ≡ *Helioocereus konzattianus* (T. MacDoug.) Doweld in Sukkulenty 4(1–2): 42. 2002 ≡ *Disocactus ackermannii* subsp. *conzattianus* (T. MacDoug.) U. Guzmán in

- Cactaceae Syst. Init. 16: 17. 2003. – Lectotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 17. 2003): [illustration] “*Nopalxochia konzattianum* new species” in MacDougall in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 19: 22, fig. 15. 1947.
2. *Disocactus anguliger* (Lem.) M. Á. Cruz & S. Arias, **comb. nov.** = *Phyllocactus anguliger* Lem. in Jard. Fleur. 1: t. 92. 1851 = *Epiphyllum anguliger* (Lem.) G. Don, Encycl. Pl., ed. 3: 1380. 1855. – Lectotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 26. 2003): [illustration] “*Phyllocactus anguliger* Ch. L.” in Lemaire in Jard. Fleur. 1: t. 92. 1851.
= *Phyllocactus darrahii* K. Schum., Gesamtb. Kakt. Nachtr.: 69. 1903 = *Epiphyllum darrahii* (K. Schum.) Britton & Rose in Contr. U.S. Natl. Herb. 16: 256. 1913. – **Neotype (designated here)**: [illustration] “*Phyllocactus darrahi* K. Schum.” in Gürke, Bluh. Kakteen: t. 91. 1910.
3. *Disocactus aurantiacus* (Kimmach) Barthlott in Bradleya 9: 87. 1991 = *Heliocereus aurantiacus* Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 46: 67. 1974 = *Disocactus speciosus* subsp. *aurantiacus* (Kimmach) Ralf Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 16. 2003. – Holotype: Nicaragua, Jinotega, Potter’s Folly, between Santa Maria Ostumes and Jinotega, 4500 feet, 1959, A. H. Heller s.n. (UC barcode 1229424!; isotypes: HNT barcode 0000028!, US barcode 00115677!).
4. *Disocactus biformis* (Lindl.) Lindl. in Bot. Reg. 31: t. 9. 1845 = *Cereus biformis* Lindl. in Bot. Reg. 29: misc. 51. 1843 = *Disisocactus biformis* (Lindl.) Kunze in Bot. Zeitung (Berlin) 3: 533. 1845 = *Phyllocactus biformis* (Lindl.) Labour., Monogr. Cact.: 418. 1853 = *Epiphyllum biforme* (Lindl.) G. Don, Encycl. Pl., ed. 3: 1378. 1855. – Neotype (designated by Kimmach in Haseltonia 1: 111. 1993): Guatemala, Sacatepéquez, 6 km N of Alotenango, gorge of Río Guacalate, 1300 m, 9 Mar 1957, C. K. Horich s.n. (UC; isoneotypes: HNT!, MO!).
5. *Disocactus crenatus* (Lindl.) M. Á. Cruz & S. Arias, **comb. nov.** = *Cereus crenatus* Lindl. in Edwards’s Bot. Reg. 30: t. 31. 1844 = *Phyllocactus crenatus* (Lindl.) Lem. in Hort. Universel 6: 87. 1845 = *Phyllocactus crenatus* (Lindl.) Walp. in Repert. Bot. Syst. 5: 820. 1846 = *Epiphyllum crenatum* (Lindl.) G. Don, Encycl. Pl., ed. 3: 1378. 1855. – Lectotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 27. 2003): [illustration in] Lindley in Edwards’s Bot. Reg. 30: t. 31. 1844.
- 5a. *Disocactus crenatus* subsp. *crenatus*
= *Phyllocactus caulorrhizus* Lem. in Jard. Fleur. 1: misc. 6. 1851 = *Epiphyllum caulorrhizum* (Lem.) G. Don, Encycl. Pl., ed. 3: 1380. 1855.
- 5b. *Disocactus crenatus* subsp. *kinnachii* (Bravo ex Kimmach) M. Á. Cruz & S. Arias, **comb. nov.** = *Epiphyllum crenatum* var. *kinnachii* Bravo ex Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 39: 207. 1967 = *Epiphyllum crenatum* subsp. *kinnachii* (Bravo ex Kimmach) U. Guzmán in Cactaceae Syst. Init. 16: 17. 2003. – **Lectotype (designated here)**: [illustration] “fig. 1 *Epiphyllum crenatum* var. *kinnachii*” in Bravo in Anales Inst. Biol. Univ. Nac. México 35: 78. 1964.
6. *Disocactus eichlamii* (Weing.) Britton & Rose in Contr. U.S. Natl. Herb. 16: 259. 1913 = *Phyllocactus eichlamii* Weing. in Monatsschr. Kakteenk. 21: 5. 1911 = *Trochilocactus eichlamii* (Weing.) Linding. in Beih. Bot. Centralbl. 61: 383. 1942 = *Epiphyllum eichlamii* (Weing.) L. O. Williams in Fieldiana, Bot. 29: 378. 1962. – Lectotype (designated by Kimmach & Hutchison in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 29: 78. 1957): Guatemala, locality unknown, 13 Nov 1910, F. Eichlam s.n. (US!).
7. *Disocactus lepidocarpus* (F. A. C. Weber) M. Á. Cruz & S. Arias, **comb. nov.** = *Phyllocactus lepidocarpus* F. A. C. Weber in Bull. Mus. Hist. Nat. (Paris) 8: 462. 1902 = *Epiphyllum lepidocarpum* (F. A. C. Weber) Britton & Rose in Contr. U.S. Natl. Herb. 16: 257. 1913. – Neotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 27. 2003): Costa Rica, Heredia, S of Volcán Barva and N of Heredia, Paso El Llano, 2100 m, 13 Mar 1983, M. Kimmach 2440 (ZSS).
- *8. *Disocactus lodei* Veliz & al. in Cact.-Avent. Int. 104: 2. 2014. – Holotype: Guatemala, Quetzaltenango, Zunil, on volcanic rocks with *Tillandsia tecpanensis* and *Epiphyllum crenatum*, 2060 m, 10 Apr 2008, M. Véliz 20100 (BIGU 42261; isotype: MEXU).
- *9. *Disocactus macdougallii* (Alexander) Barthlott in Bradleya 9: 88. 1991 = *Lobeira macdougallii* Alexander in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 16: 178. 1944 = *Nopalxochia macdougallii* (Alexander) W. T. Marshall in Cactus 4: 6. 1946 = *Heliocereus macdougallii* (Alexander) Doweld in Sukkulenty 4(1–2): 42. 2002. – Lectotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 17. 2003): [illustration] “fig. 162. *Lobeira macdougallii* sp. nov., natural size” in Alexander in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 16: 176. 1944.
10. *Disocactus macranthus* (Alexander) Kimmach & Hutchinson in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 29: 78. 1957 = *Pseudorhipsalis macrantha* Alexander in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 14: 20. 1942 = *Disisorhipsalis macrantha* (Alexander) Doweld in Sukkulenty 4(1–2): 40. 2002. – Lectotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 18. 2003): Mexico, Oaxaca, N of Niltepec, on the N side of the main Sierra near La Gloria, 830 m, 1939/1940, T. MacDougall A42 (US!; isotypes: M, MO!, P).
11. *Disocactus nelsonii* (Britton & Rose) Linding. in Beih. Bot. Centralbl. 61: 383. 1942 = *Epiphyllum nelsonii* Britton & Rose in Contr. U.S. Natl. Herb. 16: 257. 1913 = *Phyllocactus nelsonii* (Britton & Rose) Vaupel in Monatsschr. Kakteenk. 23: 116. 1913 = *Chiapasias nelsonii* (Britton & Rose) Britton & Rose, Cact. 4: 203. 1923. – Holotype: Mexico, Chiapas, near Chicharras, c. 1000 m, 12–15 Feb 1869, E. W. Nelson 3761 (US!; isotype: NY!).

- *11a. *Disocactus nelsonii* subsp. *hondurensis* (Kimmach) Doweld in Sukkulenty 4 (1–2): 41. 2002 ≡ *Disocactus nelsonii* var. *hondurensis* Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 37: 33. 1965. – Holotype: Honduras, Comayagua, 4 miles beyond El Rincon, on way from Siguatepeque, in canyon along road, 11 Aug 1962, *M. Kimmach 394* (UC; isotype: HNT barcode 0000082!).
- 11b. *Disocactus nelsonii* subsp. *nelsonii*
= *Phyllocactus chiapensis* J. A. Purpus in Monatsschr. Kakteenk. 28: 118. 1918. – **Lectotype (designated here):** [illustration] “*Phyllocactus chiapensis* J. A. Purp. Von dem Autor photographisch aufgenommen” in Purpus in Monatsschr. Kakteenk. 28: 119. 1918.
12. *Disocactus phyllanthoides* (DC.) Barthlott in Bradleya 9: 88. 1991 ≡ *Cactus phyllanthoides* DC., Cat. Pl. Horti Monsp.: 84. 1813 ≡ *Epiphyllum phyllanthoides* (DC.) Sweet, Hort. Brit. 1: 172. 1826 ≡ *Cereus phyllanthoides* (DC.) DC., Prodr. 3: 469. 1828 ≡ *Phyllocactus phyllanthoides* (DC.) Link, Handbuch 2: 11. 1829 ≡ *Nopalxochia phyllanthoides* (DC.) Britton & Rose, Cact. 4: 205. 1923 ≡ *Heliocereus phyllanthoides* (DC.) Doweld in Sukkulenty 4(1–2): 42. 2002. – Lectotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 17. 2003): [illustration] “Tab. CCXLVII” in Plukenet, Phytographia: t. 247, fig. 5. 1692. – Epitype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 17. 2003): Mexico, Puebla, near rio San Pedro in steep rocky cliffs, 1500 m, 8 Mar 2002, *Lautner L02/601* (ZSS).
13. *Disocactus quezaltecus* (Standl. & Steyererm.) Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 31: 137. 1959 ≡ *Bonifazia quezalteca* Standl. & Steyererm. in Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 23: 66. 1944 ≡ *Epiphyllum quezaltecum* (Standl. & Steyererm.) L. O. Williams in Fieldiana, Bot. 29: 378. 1962. – Holotype: Guatemala, Quezaltenango, above Mujuliá, between San Martín Chile Verde and Colomba, 1800 m, 1 Feb 1941, *P. C. Standley 85603* (F!).
14. *Disocactus speciosus* (Cav.) Barthlott in Bradleya 9: 87. 1991 ≡ *Cactus speciosus* Cav. in Anales Ci. Univ. Madrid 6: 339. 1803 ≡ *Cereus speciosus* (Cav.) K. Schum. ex Engl. & Prantl, Nat. Pflanzfam. 3(6a): 179. 1894 ≡ *Heliocereus speciosus* (Cav.) Britton & Rose in Contr. U.S. Natl. Herb. 12: 434. 1909. – Neotype (designated by Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 13. 2003): Mexico, Distrito Federal, native on the pedregal of the botanical garden of the University of Mexico, 6 Aug 1962, *M. Kimmach 383* (HNT!).
- 14a. *Disocactus speciosus* subsp. *bierianus* Ralf Bauer in EPIG 60: 31. 2008. – Holotype: Mexico, Guerrero, zwischen Filo de Caballos und Puerto del Gallo, c. 2000 m, 23 Feb 1992, *Lautner L92/46* (ZSS).
- *14b. *Disocactus speciosus* subsp. *blomianus* (Kimmach) Ralf Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 15. 2003 ≡ *Heliocereus aurantiacus* var. *blomianus* Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 62: 270. 1990 ≡ *Disocactus aurantiacus* var. *blomianus* (Kimmach) E. Meier in Kakteen And. Sukk. 48: 7: 1997. – Holotype: Mexico, Chiapas, Cerro Sabandillo, near río Monoblanco and the border of Oaxaca, Mar 1951, *T. MacDougall A202* (HNT!; isotype: CAS barcode 0027330!).
- 14c. *Disocactus speciosus* subsp. *cinnabarinus* (Eichlam ex Weing.) Ralf Bauer in Cactaceae Syst. Init. 17: 15. 2003 ≡ *Cereus cinnabarinus* Eichlam ex Weing. in Monatsschr. Kakteenk. 20: 161. 1910 ≡ *Heliocereus cinnabarinus* (Eichlam ex Weing.) Britton & Rose, Cact. 2: 129. 1920 ≡ *Disocactus cinnabarinus* (Eichlam ex Weing.) Barthlott in Bradleya 9: 87. 1991. – Neotype (designated by Doweld in Sukkulenty 4(1–2): 45. 2002): Guatemala, Quezaltenango, Las Nubes, 12 Mar 1957, *C. K. Horich s.n.* (MO barcode 148794!).
- 14d. *Disocactus speciosus* subsp. *heterodoxus* (Standl. & Steyererm.) M. Á. Cruz & S. Arias, **comb. & stat. nov.** ≡ *Heliocereus heterodoxus* Standl. & Steyererm. in Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 23: 67. 1944. – Holotype: Guatemala, San Marcos, along río Vega between San Rafael and the NE portion of Volcán de Tacaná, 2500–3000 m, 21 Feb 1940, *J. A. Steyermark 36291* (F barcode 0052879F!).
- 14e. *Disocactus speciosus* subsp. *speciosus*
= *Cactus speciosissimus* Desf. in Mém. Mus. Hist. Nat. 3: 193. 1817 ≡ *Cactus speciosissimus* (Desf.) DC., Prodr. 3: 468. 1828 ≡ *Heliocereus speciosissimus* (Desf.) Y. Itô, Cacti: 146. 1952. – **Lectotype (designated here):** [illustration] “*Cactus speciosissimus*” in Desfontaines in Mém. Mus. Hist. Nat. 3: [t. ix] pre 193. 1817.
= *Cereus coccineus* Salm-Dyck ex Pfeiff., Enum. Diagn. Cact.: 122. 1837 [non Salm-Dyck ex DC., Prodr. 3: 469. 1828] ≡ *Heliocereus coccineus* Britton & Rose in Contr. U.S. Nat. Herb. 12: 433. 1909 ≡ *Heliocereus elegantissimus* Britton & Rose, Cact. 2: 127. 1920, nom. illeg. ≡ *Cereus elegantissimus* A. Berger, Kakteen: 131. 1929, nom. illeg. – **Neotype (designated here):** [illustration] “Taf. XV *Cereus coccineus*” in Pfeiffer & Otto, Abbild. Beschr. Cact. 1: t. 15. 1839.
= *Cereus schrankii* Zucc. ex Seitz in Allg. Gartenzeitung 2: 244. 1834 ≡ *Heliocereus schrankii* (Zucc. ex Seitz) Britton & Rose in Contr. U.S. Natl. Herb. 12: 434. 1909 ≡ *Disocactus schrankii* (Zucc. ex Seitz) Barthlott in Bradleya 9: 87. 1991. – **Neotype (designated here):** [illustration] “Taf. XXVII *Cereus schrankii*” in Pfeiffer & Otto, Abbild. Beschr. Cact. 1: t. 27. 1843.
= *Cereus superbus* Ehrenb. in Bot. Zeitung (Berlin) 4: 324. 1846 ≡ *Heliocereus superbus* (Ehrenb.) A. Berger, Kakteen: 131, 341. 1929 ≡ *Heliocereus speciosus* var. *superbus* (Ehrenb.) Backeb., Cactaceae (Backeberg) 4: 2120. 1960.
= *Cereus amecamensis* Heese in Rother, Prakt. Ratgeber Obst-Gartenbau 11: 442. 1896 ≡ *Heliocereus amecamensis* (Heese) Britton & Rose in Contr. U.S. Natl. Herb. 12: 433. 1909 ≡ *Cereus speciosus* var. *ameca-*

- mensis* (Heese) Weing. in Berger, Kakteen: 131. 1929 ≡ *Heliocereus speciosus* var. *amecamensis* (Hesse) Bravo in Cact. Suc. Mex. 19: 47. 1974 ≡ *Disocactus speciosus* f. *amecamensis* (Hesse) Barthlott in Bradleya 9: 87. 1991 ≡ *Heliocereus speciosus* subsp. *amecamensis* (Hesse) Doweld in Sukkulenty 4(1–2): 41. 2002.
- = *Cereus serratus* Weing. in Monatsschr. Kakteenk. 22: 185. 1912 ≡ *Heliocereus serratus* (Weing.) Borg, Cacti: 176. 1951 ≡ *Heliocereus speciosus* var. *serratus* (Weing.) Backeb., Cactaceae 4: 2121. 1960.
- = *Heliocereus elegantissimus* var. *stenopetalus* Bravo ex S. Arias & al. in Cact. Suc Mex. 37: 72. 1992 ≡ *Heliocereus schrankii* var. *stenopetalus* (Bravo ex S. Arias & al.) Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 68: 217. 1996 ≡ *Heliocereus elegantissimus* subsp. *stenopetalus* (Bravo ex S. Arias & al.) Doweld in Sukkulenty 4(1–2): 41. 2002. – Holotype: Mexico, Durango, km 1120 carretera Durango a Mazatlán, 8 May 1965, *H. Bravo Hollis 84* (MEXU barcode 00155748!).
- = *Heliocereus elegantissimus* var. *helenae* Scheinvar in Phytologia 49: 317. 1981 ≡ *Heliocereus schrankii* var. *helenae* (Scheinvar) Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 68: 217. 1996 ≡ *Heliocereus elegantissimus* subsp. *helenae* (Scheinvar) Doweld in Sukkulenty 4(1–2): 41. 2002. – Holotype: Mexico, Estado de México, Amecameca, Tocino, Agua Viva, 13 Jul 1977 [24 Apr], *L. Scheinvar 2240* (MEXU barcode 00273025!; isotypes: MEXU barcode 00241071; US barcode 01049960!).
- = *Heliocereus luzmariae* Scheinvar in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 57: 268. 1985 ≡ *Heliocereus schrankii* subsp. *luzmariae* (Scheinvar) U. Guzmán in Cactaceae Syst. Init. 16: 17. 2003. – Holotype: Mexico, Jalisco, 3 km al noreste de la Joya, Sierra de Manantlán, 1980 m, 29 May 1984, *H. J. Arreola Nava 33* (MEXU; isotypes: IBUG barcode 0040851!, 0040851_a!).
- 15. *Disocactus xkimmachii*** G. D. Rowley in Brit. Cact. Succ. J. 5: 84. 1987 (pro sp.) ≡ *Nopalxochia horichii* Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 56: 6. 1984 [non *Disocactus horichii* Kimmach in Cact. Succ. J. (Los Angeles) 51: 169. 1979]. – Holotype: Costa Rica, San José, NE outskirts of San Isidro de Coronado along trail W of Río Durazno, c. 1400 m, [7 Jan] 1971, *C. K. Horich s.n.* (HNT barcode 0000023!; isotypes: CR, F, US barcode 00115768!).

Acknowledgements

This study is part of the requirements for Miguel Ángel Cruz to obtain a Doctor of Science degree from the Posgrado en Ciencias Biológicas (PCB), UNAM. M.A.C. thanks PCB, UNAM, for providing the facilities for this project and the Consejo Nacional de Ciencia y

Tecnología for the Ph.D. scholarship (215188). We are grateful to Mario Veliz (Universidad San Carlos de Guatemala), Gabriel Cerén, Jennie Menjivar (Museo de Historia Natural El Salvador), and Barry Hammel (Missouri Botanical Garden, Instituto Nacional de Biodiversidad, Museo Nacional de Costa Rica) for their kind help. We also thank the curators of the herbaria BIGU, CR, ENCB, HNT, INB, MEXU, MHES, MO, UAMIZ, US, USJ and XAL for loaning specimens critical to this study, as well as the program UNAM-DGAPA-PAPIIT <IN208315> to S.A., which supported this work. We thank three anonymous reviewers and Nicholas Turland for their useful comments to improve the manuscript.

References

- Anderson E. F. 2005: Das große Kakteen-Lexikon. – Stuttgart: Eugen Ulmer.
- Arias S., Terrazas T., Arreola-Nava H. J., Vázquez-Sánchez M. & Cameron K. M. 2005: Phylogenetic relationships in *Peniocereus* (Cactaceae) inferred from plastid DNA sequence data. – J. Pl. Res. **118**: 317–328.
- Arias S., Terrazas T. & Cameron K. 2003: Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. – Syst. Bot. **28**: 547–557.
- Bárcenas R. T., Yesson C. & Hawkins J. A. 2011: Molecular systematics of the Cactaceae. – Cladistics **27**: 1–20.
- Barthlott W. 1991a: *Disocactus*. – Pp. 86–88 in: Hunt D. & Taylor N. P. (ed.), Notes on miscellaneous genera of Cactaceae. – Bradleya **9**: 81–92.
- Barthlott W. 1991b: *Pseudorhipsalis*. – Pp. 90 in: Hunt D. & Taylor N. P. (ed.), Notes on miscellaneous genera of Cactaceae. Bradleya **9**: 81–92.
- Barthlott W., Burstedde K., Geffert J. L., Ibisch P. L., Korotkova N., Miebach A., Rafiqpoor M. D., Stein A. & Mutke J. 2015: Biogeography and biodiversity of cacti. – Shumannia **7**.
- Bauer R. 2002: The genus *Pseudorhipsalis* Britton & Rose. – Haseltonia **9**: 94–120.
- Bauer R. 2003: A synopsis of the tribe *Hylocereeae* F. Buxb. – Cactaceae Syst. Init. **17**: 3–63.
- Bauer R. 2007: *Disocactus speciosus* (Cavanilles) Barthlott und seine Unterarten-mit Beschreibung der neuen Unterart *D. speciosus* ssp. *bierianus* Ralf Bauer ssp. nov. – EPIG **60**: 4–61.
- Bauer R. 2009: *Epiphyllum anguliger* (Lemaire) Don ex Loudon, eine botanisch interessante Art aus dem westlichen Mexiko. – EPIG **63**: 5–15.
- Bonatelli I. A. S., Perez M. F., Peterson A. T., Taylor N. P., Zappi D. C., Machado M. C., Koch I., Pires A. C. H. & Morales E. M. 2014: Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex: phylogeography and paleodistributional reconstructions for *Pilosocereus arisetus* and allies. – Molec. Ecol. **23**: 3044–3063.

- Borsch T. & Quandt D. 2009: Mutational dynamics and phylogenetic utility of noncoding chloroplast DNA. – *Pl. Syst. Evol.* **282**: 169–199.
- Bravo-Hollis H. 1978: *Las cactáceas de México*, vol. I. – México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Britton N. L. & Rose J. N. 1923: *The Cactaceae* **4**. – Washington D.C.: The Carnegie Institution.
- Butterworth C. A. & Wallace R. S. 2004: Phylogenetic studies of *Mammillaria* (*Cactaceae*) insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap. – *Amer. J. Bot.* **91**: 1086–1098.
- Buxbaum F. 1958: The phylogenetic division of the subfamily *Cereoideae*, *Cactaceae*. – *Madroño* **14**: 177–216.
- Calvente A., Zappi D. C., Forest F. & Lohmann L. G. 2011a: Molecular phylogeny of tribe *Rhipsalideae* (*Cactaceae*) and taxonomic implications for *Schlumbergera* and *Hattiora*. – *Molec. Phylog. Evol.* **58**: 456–468.
- Calvente A., Zappi D. C., Forest F. & Lohmann L. G. 2011b: Molecular phylogeny, evolution, and biogeography of South American epiphytic cacti. – *Int. J. Pl. Sci.* **172**: 902–914.
- Darriba D., Taboada G. L., Doallo R. & Posada D. 2012: jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. – *Nature, Meth.* **9**: 772.
- Edwards E. J., Nyffeler R. & Donoghue M. J. 2005: Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (*Cactaceae*) paraphyly for the transition to the cactus life form. – *Amer. J. Bot.* **92**: 1177–1188.
- Franck A. R., Cochrane B. J. & Garey J. R. 2012: Low-copy nuclear primers and *ycf1* primers in *Cactaceae*. – *Amer. J. Bot.* **99**: 405–407.
- Franck A. R., Cochrane B. J. & Garey J. R. 2013: Relationships and dispersal of the Caribbean species of *Harrisia* (sect. *Harrisia*: *Cactaceae*) using AFLPs and seven DNA regions. – *Taxon* **62**: 486–497.
- Griffith M. P. 2002: *Grusonia pulchella* classification and its impacts on the genus *Grusonia*: morphological and molecular evidence. – *Haseltonia* **9**: 86–93.
- Harpke D. & Peterson A. 2006: Non-concerted ITS evolution in *Mammillaria* (*Cactaceae*) – *Molec. Phylog. Evol.* **41**: 579–593.
- Hartmann S., Nason J. D. & Bhattacharya D. 2001: Extensive ribosomal DNA genetic variation in the columnar cactus *Lophocereus*. – *J. Molec. Evol.* **53**: 124–134.
- Hernández-Hernández T., Hernández H. M., De-Nova J. A., Eguiarte L. E. & Magallón S. 2011: Phylogenetic relationship and evolution of growth form in *Cactaceae* (*Caryophyllales*, *Eudicotyledoneae*). – *Amer. J. Bot.* **98**: 44–61.
- Huelsenbeck J. P. & Ronquist F. 2001: MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. – *Bioinformatics* **17**: 754–755.
- Hunt D., Taylor N. P. & Charles G. 2006: *The new cactus lexicon*. – Milborne Port: Dh Books.
- Katoh K., Misawa K., Kuma K. & Miyata T. 2002: MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. – *Nucl. Acids Res.* **14**: 3059–3066.
- Kimnach M. 1959: *Disocactus quezaltecus*. – *Cact. Succ. J. (Los Angeles)* **31**: 137–141.
- Kimnach M. 1974: *Heliocereus aurantiacus*. – *Cact. Succ. J. (Los Angeles)* **46**: 67–69.
- Kimnach M. 1984: *Nopalxochia horichii*, a new cactus from Costa Rica. – *Cact. Succ. J. (Los Angeles)* **56**: 4–8.
- Kimnach M. 1993: The genus *Disocactus*. – *Haseltonia* **1**: 95–139.
- Korotkova N., Borsch T., Quandt D., Taylor N. P., Müller K. F. & Barthlott W. 2011: What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from the epiphytic *Rhipsalideae* (*Cactaceae*). – *Amer. J. Bot.* **98**: 1549–1572.
- Korotkova N., Zabel L., Quandt D. & Barthlott W. 2010: A phylogenetic analysis of *Pfeiffera* and the reinstatement of *Lymanbensonia* as an independently evolved lineage of epiphytic *Cactaceae* within a new tribe *Lymanbensoniaceae*. – *Willdenowia* **40**: 151–172.
- Larridon I., Walter H. E., Guerrero P. C., Duarte M., Cisternas M. A., Peña-Hernández C., Bauters K., Asselman P., Goetghebeur G. & Samain M. S. 2015: An integrative approach to understanding the evolution and diversity of *Copiapoa* (*Cactaceae*), a threatened endemic Chilean genus from the Atacama Desert. – *Amer. J. Bot.* **102**: 1506–1520.
- Lindley J. 1845: *Disocactus*. – *Edwards's Bot. Reg.* **31**: t. 9.
- Lodé J. 2013: *Acanthocereus*. – *Cact.-Avent. Int.* **97** (Suppl.): 2–11.
- Majure L. C., Puente R., Griffith M. P., Judd W. S., Soltis P. S. & Soltis D. E. 2012: Phylogeny of *Opuntia* s.s. (*Cactaceae*): clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. – *Amer. J. Bot.* **99**: 847–864.
- Müller K. F. 2005: SeqState – primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA datasets. – *Appl. Bioinformatics* **4**: 65–69.
- Nyffeler R. 2002: Phylogenetic relationships in the cactus family (*Cactaceae*) based on evidence from *trnK/matK* and *trnL-trnF* sequences. – *Amer. J. Bot.* **9**: 312–326.
- Plume O., Straub S. C. K., Tel-Zur N., Cisneros A., Schneider B. & Doyle J. J. 2013: Testing a hypothesis of intergeneric allopolyploidy in vine cacti (*Cactaceae*: *Hylocereeae*). – *Syst. Bot.* **38**: 737–751.
- Rambaut A. & Drummond A. J. 2009: TRACER: MCMC Trace Analysis Tool Version v1. 5.0. – University of Oxford.
- Ritz C. M., Martins L., Mecklenburg R., Goremykin V. & Hellwig F. H. 2007: The molecular phylogeny of *Rebutia* (*Cactaceae*) and its allies demonstrates

- the influence of paleogeography on the evolution of South American mountain cacti. – *Amer. J. Bot.* **94**: 1321–1332.
- Sang T., Crawford D. & Stuessy T. F. 1997: Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (*Paeoniaceae*). – *Amer. J. Bot.* **84**: 1120–1136.
- Schlumpberger B. O. & Renner S. S. 2012: Molecular phylogenetics of *Echinopsis* (*Cactaceae*): polyphyly at all levels and convergent evolution of pollination modes and growth forms. – *Amer. J. Bot.* **99**: 1335–1349.
- Shaw J., Lickey E. B., Schilling E. E. & Small R. L. 2007: Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. – *Amer. J. Bot.* **94**: 275–288.
- Simmons M. P. & Ochoterena H. 2000: Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. – *Syst. Biol.* **49**: 369–381.
- Simmons M. P., Ochoterena H. & Carr T. G. 2001: Incorporation, relative homoplasy and effect of gap characters in sequence-based phylogenetic analyses. – *Syst. Biol.* **50**: 454–462.
- Standley P. C. & Steyermark J. A. 1944: *Helicocereus heterodoxus*. – *Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* **23**: 67–68.
- Swofford D. L. 2002: PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) 4.0. – Sunderland: Sinauer Associates.
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G. & Bouvet J. 1991: Universal primers for amplification of the tree non-coding regions of chloroplast DNA. – *Pl. Molec. Biol.* **17**: 1105–1109.
- Tate J. A. & Simpson B. B. 2003: Paraphyly of *Tarasa* (*Malvaceae*) and diverse origins of the polyploid species. – *Syst. Bot.* **28**: 723–737.
- Vázquez-Sánchez M., Terrazas T., Arias S. & Ochoterena H. 2013: Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe *Cacteae* (*Cactaceae*). – *Syst. Biodivers.* **11**: 103–116.
- Weingart W. 1910: *Cereus cinnabarinus* Eichlam spec. nov. – *Monatsschr. Kakteenk.* **20**: 161–162.

Willdenowia

Open-access online edition www.bioone.org/loi/will  BioOne

Online ISSN 1868-6397 · Print ISSN 0511-9618 · Impact factor 0.721

Published by the Botanic Garden and Botanical Museum Berlin, Freie Universität Berlin

© 2016 The Authors · This open-access article is distributed under the CC BY 4.0 licence

Appendix

Taxa included in plastid *rpl16*, *trnL-F*, *psbA-trnH*, *trnQ-rps16*, *matK* and *ycf1* phylogenetic analyses. Two-letter country codes follow ISO 3166-1 alpha-2.

Taxon	Source, voucher	GenBank accession number					
		<i>rpl16</i>	<i>trnL-F</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnQ-rps16</i>	<i>matK</i>	<i>ycf1</i>
<i>Acanthocereus chiapensis</i> Bravo	MX: Chiapas, Guzmán 999, MEXU	KU598005	KU598057	KU597952	KU598110	KU597899	KU598162
<i>Acanthocereus oaxacensis</i> (Britton & Rose) Lodé	MX: Oaxaca, Arias 2185, MEXU	KU598008	KU598060	KU597955	KU598113	KU597902	KU598165
<i>Acanthocereus tetragonus</i> (L.) Hummelinck	MX: Chiapas, Guzmán 1002, MEXU	KU598021	KU598074	KU597969	KU598127	KU597916	KU598178
<i>Aporocactus flagelliformis</i> (L.) Lem.	MX: Veracruz, Cruz 01, MEXU	KU597980	KU598032	KU597927	KU598085	KU597874	KU598138
<i>Aporocactus flagelliformis</i>	MX: Veracruz, Cruz 02, MEXU	KU597983	KU598035	KU597930	KU598088	KU597877	KU598141
<i>Aporocactus marianus</i> (Zucc.) Britton & Rose	MX: Oaxaca, Cruz 09, MEXU	KU597986	KU598038	KU597933	KU598091	KU597880	KU598144
<i>Aporocactus marianus</i>	MX: Oaxaca, Cruz 13, MEXU	KU597989	KU598041	KU597936	KU598094	KU597883	KU598147
<i>Disocactus ackermannii</i> (Haw.) Ralf Bauer	MX: Oaxaca, Cruz 10, MEXU	KU597985	KU598037	KU597932	KU598090	KU597879	KU598143
<i>Disocactus ackermannii</i>	MX: Oaxaca, Cruz 14, MEXU	KU597988	KU598040	KU597935	KU598093	KU597882	KU598146
<i>Disocactus anguliger</i> (Lem.) M. Á. Cruz & S. Arias	MX: Jalisco, García 897, MEXU	KU598026	KU598079	KU597974	KU598132	KU597921	KU598182
<i>Disocactus aurantiacus</i> (Kimmach) Barthlott	SV: Santa Ana, Cerén 2580, MHES	KU598010	KU598062	KU597957	KU598115	KU597904	KU598167
<i>Disocactus aurantiacus</i>	SV: Santa Ana, Menjívar 2429, MHES	KU598013	KU598066	KU597961	KU598119	KU597908	KU598171
<i>Disocactus bififormis</i> (Lindl.) Lindl.	GT: Sacatepéquez, Veliz 19901, BIGU	KU598016	KU598069	KU597964	KU598122	KU597911	KU598174
<i>Disocactus bififormis</i>	GT: Sacatepéquez, Veliz 23600, BIGU	KU598019	KU598072	KU597967	KU598125	KU597914	KU598176
<i>Disocactus crenatus</i> (Lindl.) M. Á. Cruz & S. Arias	MX: Oaxaca, Cruz 11, MEXU	KU598014	KU598067	KU597962	KU598120	KU597909	KU598172
<i>Disocactus crenatus</i>	MX: Chiapas, Cruz 23, MEXU	KU598017	KU598070	KU597965	KU598123	KU597912	KU598175
<i>Disocactus eichlamii</i> (Weing.) Britton & Rose	GT: Chimaltenango, Veliz 19887, BIGU	KU598011	KU598063	KU597958	KU598116	KU597905	KU598168
<i>Disocactus xkimmachii</i> G. D. Rowley	CR: Heredia, Hammel 26706, INB	KU597984	KU598036	KU597931	KU598089	KU597878	KU598142
<i>Disocactus lepidocarpus</i> (F. A. C. Weber) M. Á. Cruz & S. Arias	CR: Limón, Hammel 25624, INB	KU598065	KU598065	KU597960	KU598118	KU597907	KU598170
<i>Disocactus macranthus</i> (Alexander) Kimmach & Hutchison	MX: Veracruz, Cruz 07, MEXU	KU597982	KU598034	KU597929	KU598087	KU597876	KU598140
<i>Disocactus macranthus</i>	MX: Veracruz, Cruz 08, MEXU	KU597990	KU598042	KU597937	KU598095	KU597884	KU598148

(continued on next page)

(Appendix continued from previous page)

Taxon	Source, voucher	GenBank accession number						
		<i>rpl16</i>	<i>trnL-F</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnQ-rps16</i>	<i>matK</i>	<i>ycf1</i>	
<i>Disocactus nelsonii</i> (Britton & Rose) Linding.	MX: Chiapas, Cruz 17, MEXU	KU597999	KU598051	KU597946	KU598104	KU597893	KU598156	
<i>Disocactus phyllanthoides</i> (DC.) Barthlott	MX: Puebla, Arias 1432, MEXU	KU597981	KU598033	KU597928	KU598086	KU597875	KU598139	
<i>Disocactus phyllanthoides</i>	MX: Veracruz, Arias 2201, MEXU	KU598025	KU598078	KU597973	KU598131	KU597920	KU598181	
<i>Disocactus quezaltecus</i> (Standl. & Steyerl.) Kimmach	GT: Quezaltenango, Veliz 20054, BIGU	KU597995	KU598047	KU597942	KU598100	KU597889	KU598152	
<i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>bieritanus</i> Ralf Bauer	MX: Guerrero, Salazar 6564B, MEXU	KU597987	KU598039	KU597934	KU598092	KU597881	KU598145	
<i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>cinnabarinus</i> (Eichlam ex Weing.) Ralf Bauer	GT: Chimaltenango, Veliz 19579, BIGU	KU598000	KU598052	KU597947	KU598105	KU597894	KU598157	
<i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>heterodoxus</i> (Standl. & Steyerl.) M. Á. Cruz & S. Arias	MX: Chiapas, Cruz 18, MEXU	KU598006	KU598058	KU597953	KU598111	KU597900	KU598163	
<i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>heterodoxus</i>	MX: Chiapas, Cruz 22, MEXU	KU597996	KU598048	KU597943	KU598101	KU597890	KU598153	
<i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>heterodoxus</i>	MX: Chiapas, Arias 1666, MEXU	KU598020	KU598073	KU597968	KU598126	KU597915	KU598177	
<i>Disocactus speciosus</i> (Cav.) Barthlott subsp. <i>speciosus</i>	MX: Jalisco, Morales 01, MEXU	KU597992	KU598044	KU597939	KU598097	KU597886	KU598150	
<i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>speciosus</i>	GT: Quezaltenango, Veliz 20104, BIGU	KU598004	KU598056	KU597951	KU598109	KU597898	KU598161	
<i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>speciosus</i>	MX: Oaxaca, Cruz 16, MEXU	KU597991	KU598043	KU597938	KU598096	KU597885	KU598149	
<i>Disocactus</i> sp. 1	SV: Santa Ana, Cerén 2578, MHES	KU598007	KU598059	KU597954	KU598112	KU597901	KU598164	
<i>Disocactus</i> sp. 1	SV: Santa Ana, Menjivar 2428, MHES	KU598003	KU598055	KU597950	KU598108	KU597897	KU598160	
<i>Epiphyllum cartagense</i> Britton & Rose	CR: Alajuela, Hammel 19793, INB	KU598002	KU598054	KU597949	KU598107	KU597896	KU598159	
<i>Epiphyllum chrysocardium</i> Alexander	MX: Chiapas, MacDougall 198, MEXU	KU598030	KU598083	KU597978	KU598136	KU597925	KU598186	
<i>Epiphyllum chrysocardium</i>	MX: Chiapas, Arias 1708, MEXU	KU598001	KU598053	KU597948	KU598106	KU597895	KU598158	
<i>Epiphyllum hookeri</i> Haw. subsp. <i>hookeri</i>	MX: Veracruz, Cruz 03, MEXU	KU597997	KU598049	KU597944	KU598102	KU597891	KU598154	
<i>Epiphyllum hookeri</i> subsp. <i>pittieri</i> (F. A. C. Weber) Ralf Bauer	CR: Puntarenas, Hammel 22194, INB	KU598009	KU598061	KU597956	KU598114	KU597903	KU598166	

(continued on next page)

(Appendix continued from previous page)

Taxon	Source, voucher	GenBank accession number						
		<i>rpl16</i>	<i>trnL-F</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnQ-rps16</i>	<i>matK</i>	<i>ycf1</i>	
<i>Epiphyllum phyllanthus</i> (L.) Haw. subsp. <i>phyllanthus</i>	SR: Hammel 22377, INB	KU598015	KU598068	KU597963	KU598121	KU597910	KU598173	
<i>Epiphyllum pumilum</i> Britton & Rose	MX: Veracruz, Cruz 06, MEXU	KU597993	KU598045	KU597940	KU598098	KU597887		
<i>Epiphyllum thomsonianum</i> (K. Schum.) Britton & Rose	PA: Coele, Hammel 22020, INB	KU598018	KU598071	KU597966	KU598124	KU597913		
<i>Hylocereus ocamponis</i> (Salm-Dyck) Britton & Rose	MX: Guerrero, Gama 104, MEXU	KU598027	KU598080	KU597975	KU598133	KU597922	KU598183	
<i>Hylocereus purpusii</i> (Weing.) Britton & Rose	MX: Oaxaca, Guzmán 1095, MEXU	KU598028	KU598081	KU597976	KU598134	KU597923	KU598184	
<i>Lemaireocereus hollianus</i> (F. A. C. Weber) Britton & Rose	MX: Puebla, Arias 1373, MEXU	KU598012	KU598064	KU597959	KU598117	KU597906	KU598169	
<i>Pereskia lychnidiflora</i> DC.	MX: Oaxaca, Arias 1153, MEXU	KU598024	KU598077	KU597972	KU598130	KU597919	KU598188	
<i>Pseudorhipsalis amazonica</i> (K. Schum.) Ralf Bauer	PA: Colon, Hammel 24524, INB	KU597994	KU598046	KU597941	KU598099	KU597888	KU598151	
<i>Pseudorhipsalis himantoclada</i> (Rol.-Goss.) Britton & Rose	CR: San José, Hammel 22076, INB	KU597998	KU598050	KU597945	KU598103	KU597892	KU598155	
<i>Selenicereus atropilosus</i> Kimmach	MX: Jalisco, Arreola 1473, MEXU	KU598029	KU598082	KU597977	KU598135	KU597924	KU598185	
<i>Selenicereus donkelaarii</i> Britton & Rose	MX: Yucatán, Arias 1089, MEXU	KU598022	KU598075	KU597970	KU598128	KU597917	KU598179	
<i>Selenicereus grandiflorus</i> (L.) Britton & Rose	MX: Veracruz, Guzmán 1365, MEXU	KU598023	KU598076	KU597971	KU598129	KU597918	KU598180	
<i>Weberocereus glaber</i> (Eichlam) G. D. Rowley	MX: Chiapas, Bravo 5614, MEXU	KU598031	KU598084	KU597979	KU598137	KU597926	KU598187	

CAPÍTULO II

Análisis filogenético combinado para la tribu Hylocereeae F. Buxb. (Cactaceae)

Resumen

Diversos estudios han demostrado las virtudes que presentan los análisis combinados. Sin embargo, éstos son poco comunes en cactáceas. La homoplasia que presentan los datos morfológicos es el principal argumento para excluirlos de las reconstrucciones filogenéticas. Su empleo ha sido restringido al mapeo o a la evolución de caracteres a partir de hipótesis filogenéticas obtenidas mediante datos moleculares. En el presente estudio se examinó la contribución de los datos morfológicos en el establecimiento de hipótesis filogenéticas robustas y se evaluó el valor filogenético de un conjunto de caracteres morfológicos. Para ello, se realizó un análisis combinado con 19 caracteres morfológicos y seis marcadores moleculares de cloroplasto, además de la reconstrucción de estados ancestrales. Los resultados obtenidos apoyan la incorporación de los datos morfológicos en la reconstrucción filogenética. Se obtuvo un árbol robusto y con mejor resolución en comparación con los generados solo con datos moleculares. La mayoría de los caracteres morfológicos analizados son homoplásicos. Solo se identificaron dos sinapomorfias que apoyan la monofilia de la tribu Hylocereeae, una para el género *Acanthocereus* y dos para el género *Epiphyllum*. Este estudio representa el primer análisis realizado bajo una perspectiva de evidencia total para la tribu.

Palabras clave. Análisis combinado, reconstrucción de estados ancestrales, datos moleculares, datos morfológicos, Máxima Parsimonia, Inferencia Bayesiana, Hylocereeae, *Disocactus*, *Epiphyllum*, *Kimnachia*, *Pseudorhipsalis*.

Abstract

Various studies have demonstrated the virtues of combined analyses. However, these are uncommon in cacti. The homoplasy present in the morphological data is the main argument to exclude them from phylogenetic reconstruction. Their use has been restricted to the mapping or evolution of characters from the phylogenetic hypotheses obtained from the molecular data. In the present study the contribution of morphological data in the establishment of robust phylogenetic hypotheses was examined and the phylogenetic value of a set of morphological characters was evaluated. Therefore, a combined analysis with 19 morphological characters and six chloroplast molecular markers was performed, in addition to the reconstruction of ancestral states. The results support the incorporation of morphological data in phylogenetic reconstruction. A robust tree with better resolution compared to those generated only with molecular data was obtained. Most of the morphological characters analyzed are homoplastic. Only two synapomorphies supporting the monophyly of the tribe Hylocereeae were identified, one for the genus *Acanthocereus* and two for the genus *Epiphyllum*. This study represents the first analysis conducted from a perspective of total evidence for the tribe.

Keywords. Combined analysis, reconstruction of ancestral states, molecular data, morphological data, Maximum Parsimony, Bayesian Inference, Hylocereeae, *Disocactus*, *Epiphyllum*, *Kimmachia*, *Pseudorhipsalis*.

1.- Introducción

Desde los inicios de la Sistemática como ciencia, la morfología fue la principal fuente de información para el establecimiento de las relaciones entre organismos (Giribet, 2015). Sin embargo, a partir de 1960 diversos tipos de datos genéticos y moleculares (por ejemplo: alozimas, cromosomas, hibridación ADN-ADN, secuencias de nucleótidos) estuvieron disponibles para inferir las relaciones filogenéticas (Lee y Palci, 2015). En las décadas más recientes, los análisis filogenéticos con datos moleculares han tenido un crecimiento sobresaliente. Los avances metodológicos y tecnológicos han hecho posible generar y analizar grandes cantidades de datos de ADN, permitiendo que las filogenias construidas con matrices que exceden los miles de pares de bases sean una práctica común (Pyro, 2015). Si bien esta gran cantidad de datos representa un reto computacional, producen árboles con buena resolución y con soportes de rama altos, por lo que los datos moleculares son vistos como la mejor elección para reconstruir árboles filogenéticos. A diferencia de las filogenias moleculares, las filogenias morfológicas han tenido un desarrollo marginal, y en la actualidad un número reducido de estudios las han utilizado para establecer relaciones de ancestría-descendencia (Bybee *et al.*, 2010).

Una estrategia para incluir la información que los datos morfológicos proporcionan en la reconstrucción filogenética, es mediante un análisis combinado. Esta alternativa fue propuesta por Kluge (1989), a través del concepto de “evidencia total”, mediante el cual todos los caracteres disponibles deben ser incluidos en un análisis filogenético. La combinación de los diferentes tipos de datos dentro de una sola matriz permite revelar nuevas relaciones, a través del efecto sinérgico de la interacción de los datos (Thompson *et*

al., 2012). La señal filogenética que es común (aunque no necesariamente fuerte) entre las diferentes particiones puede ser revelada dentro de una sola topología, solo cuando las particiones son combinadas (Gatesy *et al.*, 1999). Además, la inclusión de distintas fuentes de datos en un solo análisis, genera filogenias con mayor resolución en comparación con los datos analizados por separado (Wortley y Scotland, 2006). Esto se atribuye al incremento de la claridad de la señal filogenética (sinapomorfias) cuando más datos (más caracteres) son adicionados al análisis (Olmstead y Sweere, 1994; Chase y Cox, 1998).

Filogenias construidas con ambos tipos de datos (morfológicos y moleculares) son poco frecuentes en cactáceas. *Eriogyne* subgénero *Neoporteria* (Guerrero *et al.*, 2011) y *Echinocereus* (Sánchez *et al.*, 2017) son ejemplos recientes. Las filogenias moleculares han permitido reconocer que determinados rasgos fenotípicos son producto de convergencia, revelando que algunas propuestas de clasificación, basadas en características morfológicas, son artefactos de la homoplasia, como se demostró con *Grusonia* (Griffith, 2002), *Pachycereus* (Arias *et al.*, 2003) y *Ferocactus* (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013). Esto ha limitado sensiblemente la utilidad de los atributos morfológicos en la postulación de hipótesis filogenéticas robustas. Su empleo ha sido restringido al estudio de la evolución de caracteres como la morfología floral y del tallo (Calvente *et al.*, 2011); la forma de crecimiento y el síndrome de polinización (Schlumpberger y Renner, 2012; Hernández-Hernández *et al.*, 2014); la morfología de la raíz (Larridon *et al.*, 2015); así como la forma de crecimiento del xilema secundario (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2017), por citar solo algunos ejemplos.

Por otra parte, la inferencia de estados ancestrales de carácter o evolución de caracteres no toman en cuenta la información filogenética que contienen los datos

morfológicos; ya que dichos análisis se basan en filogenias previamente realizadas que por lo general son obtenidas a partir de datos moleculares. En el último tratamiento taxonómico basado en morfología (Hunt *et al.*, 2006) la circunscripción de Hylocereeae incluía seis géneros: *Disocactus*, *Epiphyllum*, *Hylocereus*, *Pseudorhipsalis*, *Selenicereus* y *Weberocereus*. Sin embargo, Korotkova *et al.* (2017) empleando datos moleculares proponen una nueva circunscripción para la tribu y reconocen ocho géneros: *Acanthocereus*, *Aporocactus*, *Disocactus*, *Epiphyllum*, *Selenicereus*, *Kimnachia*, *Pseudorhipsalis* y *Weberocereus*. Por lo tanto, en el presente estudio se realizó un análisis combinado para la tribu Hylocereeae, mediante el cual se puso a prueba la robustez de siete de los ocho géneros propuestos para Hylocereeae con base en caracteres moleculares (Korotkova *et al.*, 2017). Asimismo, se examinó la contribución de los caracteres morfológicos en el establecimiento de hipótesis filogenéticas robustas, se evaluó su valor taxonómico y con lo obtenido se planteó una hipótesis sobre la evolución del epifitismo en Hylocereeae.

2.- Materiales y métodos

Muestreo de taxones. Se trató a Hylocereeae en sentido amplio según las propuestas taxonómicas derivadas de estudios filogenéticos recientes (Cruz *et al.*, 2016; Korotkova *et al.*, 2017). El análisis incluyó representantes de siete géneros: tres especies de *Acanthocereus*, dos de *Aporocactus*, 13 de *Disocactus* (incluye cuatro subespecies), seis de *Epiphyllum*, una de *Kimnachia*, dos de *Pseudorhipsalis* y seis de *Selenicereus*. Se incluyó a *Lemaireocereus hollianus* y *Pereskia lychnidiflora* como grupo hermano y externo respectivamente.

Datos moleculares. Se utilizaron 237 secuencias procedentes del estudio previo de Cruz *et al.* (2016), y que incluyen seis marcadores moleculares de cloroplasto: dos intrones (*rpl16* y *trnL-F*), dos secuencias espaciadoras (*psbA-trnH* y *trnQ-rps16*) y dos regiones codificantes (*matK* y *ycf1*). Las secuencias se alinearon usando MAFFT multiple sequence alignment based on fast Fourier transform (Kato *et al.*, 2002) y posteriormente se realizó una inspección manual. Se eliminaron las regiones altamente variables, aquí definidas como hotspots. Los eventos de inserción y deleción (indels) fueron codificados siguiendo el método simple de codificación de indel propuesto por Simmons y Ochoterena (2000), con la opción Indel Coder de SeqState v.1.40 (Müller 2005). Los marcadores alineados y los indels codificados se concatenaron con la ayuda de Mesquite (Maddison y Maddison, 2017) para generar una sola matriz de datos moleculares.

Datos morfológicos. Se construyó una matriz con 19 caracteres. La lista de los caracteres se muestra en el Apéndice 2. Se incluyeron atributos del tallo, de la flor y de la semilla. Los datos morfológicos se obtuvieron de la observación de ejemplares vivos, de herbario (CR, HNT, INB, MEXU, MO, US, USJ) y de la literatura. La principal fuente de consulta fue el trabajo de Kimnach (1993) para *Disocactus*, Kimnach (1961) para *Kimnachia ramulosa* y la monografía del género *Pseudorhipsalis* realizada por Bauer (2002). Respecto a la micro-morfología de la semilla, se empleó el método de Arroyo-Cosultchi *et al.* (2006), y se adoptaron la terminología y los estados de carácter propuestos por Barthlott y Hunt (2000).

Datos combinados. Empleando Mesquite (Maddison y Maddison, 2017) la matriz del conjunto de 19 de caracteres morfológicos (Apéndice 3) se concatenó con los datos de las secuencias que incluyen los indels codificados, para generar una sola matriz combinada.

Para el análisis con máxima parsimonia (MP), los indels codificados y los datos morfológicos fueron transformados a nucleótidos (0=A, 1=C, 2=G, 3=T); mientras que para máxima verosimilitud (ML) e inferencia bayesiana (BI) los indels fueron codificados como datos binarios y los morfológicos como multiestado.

Análisis filogenéticos. PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002) fue utilizado para todos los análisis de MP. Todos los caracteres fueron desordenados y de pesos iguales. Se empleó una búsqueda heurística con adición de secuencias simple y 15000 réplicas, el algoritmo de intercambio de ramas utilizado fue TBR (tree-bisection-reconnection). Para el soporte de ramas se emplearon 5000 réplicas de bootstrap (BS). Para los análisis de ML se empleó RAxML v8.2. (Stamatakis, 2014), los datos se particionaron y se realizaron 5000 réplicas de bootstrap. Para los datos de secuencias cada partición utilizó el modelo de sustitución GTR+I+G de acuerdo a los resultados de jModeltest (Darriba *et al.*, 2012) y para los datos morfológicos se utilizó el modelo Mk (Lewis, 2001). El análisis de BI se llevó a cabo usando MrBayes 3.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001) con los datos particionados. Para los datos de secuencias cada partición utilizó como modelo de sustitución GTR+I+G; para la partición de indels codificados el modelo de sitios de restricción (binario) y para los datos morfológicos el modelo de datos discretos (standard). Dos corridas independientes se llevaron a cabo con cuatro cadenas cada una y seis millones de generaciones con un muestreo de las cadenas cada 1000 generaciones. La convergencia de las cadenas se observó usando Tracer (Rambaut y Drummond, 2009). El 20% de los primeros árboles se descartaron como el burn-in. Los árboles restantes se utilizaron para construir el árbol consenso de mayoría al 50%. Los árboles se editaron utilizando la herramienta TreeExplorer incorporada en el programa MEGA7 (Kumar *et al.*, 2016).

Evolución de caracteres. Para la reconstrucción de estados ancestrales se utilizó el árbol de mayoría al 50% obtenido del análisis de BI. Bajo el criterio de parsimonia, la reconstrucción se llevó a cabo con Mesquite (Maddison y Maddison, 2017) utilizando el modelo de parsimonia con estados desordenados y la opción “trazar la historia de los caracteres”. Para ML, la reconstrucción se efectuó con BayesTraits V2.0 (Pagel *et al.*, 2004), empleando un modelo multiestado; la designación de los nodos reconstruidos se realizó con TreeGraph 2 (Stöver y Müller, 2010). Las probabilidades de los estados reconstruidos con ML para cada uno de los nodos se representaron con gráficas circulares.

3.- Resultados

Los árboles obtenidos de los análisis de MP, ML e BI son altamente congruentes; recuperan el mismo número de clados con soportes de moderados a altos (Figura 5 BI, Apéndice 4: Figura 12 MP y Figura 13 ML). Sin embargo, exhiben diferencias al interior de algunos clados, reflejo del grado de resolución que cada método proporciona. La tribu Hylocereeae se recupera con altos soportes (100 MP-BS, 100 ML-BS, 0.98 BI-PP). Nueve sinapomorfias apoyan su monofilia, de las cuales siete son moleculares y corresponden a sustituciones en cuatro marcadores (*psbA-trnH*, *trnL-F*, *rpl16* y *yef1*); mientras que, las dos restantes son morfológicas (presencia de hábito arbustivo y tallos dimórficos) (Tabla 5).

Hylocereeae está integrada por seis clados. El clado I (99 MP-BS, 100 ML-BS, 1.0 PP) incluye las 17 terminales de *Disocactus*, con siete sinapomorfias moleculares (seis sustituciones y un indel) que apoyan su monofilia. El clado II corresponde a *Epiphyllum* (100 BS, 100 BS, 1.0 PP), nueve sustituciones y tres indel's son exclusivos de este clado; se identifica como grupo hermano del clado I. Los soportes para esta hipótesis filogenética

son moderados para ML e BI (77 BS, 0.87 PP) y ausentes para MP (-- BS), no se observan sinapomorfias que apoyen esta relación. En un grado anterior se recupera el clado III (72 MP-BS, 59 ML-BS, 0.69 PP) que contiene a las dos especies de *Pseudorhopsalis* y a *Kimnachia ramulosa*, una sustitución en *rpl16* sustenta la monofilia del clado. Su posición está fuertemente apoyada (91 MP-BS, 97 ML-BS, 1.0 PP) y se respalda en tres sinapomorfias moleculares (sustituciones en *trnQ-rps16*, *rpl16* y *ycf1*). El clado IV (100 MP-BS, 100 ML-BS, 1.0 PP) está conformado por las dos especies de *Aporocactus* y presenta nueve sustituciones moleculares únicas. El clado V (100 BS, 100 BS, 1.0 PP) incluye a las terminales de *Selenicereus* seis sustituciones y seis indel's apoyan su monofilia; se recuperan como hermano del clado IV. Esta afinidad es moderada para MP (89 BS) y robusta para ML e BI (100 BS, 1.0 PP); se sustenta en dos sinapomorfias moleculares (sustituciones en *trnQ-rps16* y *rpl16*) y una morfológica (desarrollo de raíces aéreas a lo largo del tallo). Ambos clados son el grupo hermano de los tres anteriores (96 MP-BS, 94 ML-BS, 0.99 PP), dos sustituciones en *ycf1* se identifican como sinapomorfias para esta relación. El clado VI (100 BS, 100 BS, 1.0 PP) incluye a las tres especies de *Acanthocereus*, donde nueve sinapomorfias moleculares y una morfológica (forma de crecimiento escandente) apoyan su monofilia. Además se reconoce como el grupo que más tempranamente divergió dentro de Hylocereeae.

La diferencia entre los tres árboles corresponde a la resolución al interior del clado I. Para MP (Apéndice 4, Figura 12) se recupera como una politomía, mientras que para ML (Apéndice 4, Figura 13) e BI (Figura 5) está totalmente resultado. Sin embargo, los soportes al interior son bajos para la mayoría de las relaciones, además de presentar distintos patrones de divergencia. La reconstrucción de estados ancestrales de carácter con MP y ML

para cuatro caracteres morfológicos de tallo se muestra en la figura 6; para siete caracteres de la flor en las figuras 7 y 8 y para tres caracteres de semilla en la figura 9.

4.- Discusión

El resultado del análisis combinado es consistente con estudios previos realizados exclusivamente con datos moleculares, recuperando el mismo número de géneros identificados en el trabajo de Cruz *et al.* (2016), los que corresponden a seis de los ocho géneros propuestos por Korotkova *et al.* (2017). Además, se esclarecieron relaciones problemáticas como las de *Disocactus*, *Epiphyllum* y *Pseudorhipsalis*, y se plantearon hipótesis filogenéticas robustas. La reconstrucción de estados ancestrales demostró que 74% de los caracteres aquí analizados han surgido más de una vez, identificándose solo cinco sinapomorfias, mientras que el epifitismo se originó directamente del crecimiento escandente.

Los géneros de Hylocereeae

La filogenia obtenida del análisis combinado coincide con las generadas con datos moleculares (Cruz *et al.*, 2016; Korotkova *et al.*, 2017). Si bien se recuperan seis géneros, solo cinco de ellos presentan soportes de rama altos (100 BS, 1.0 PP) y coinciden con los propuestos por Korotkova *et al.* (2017). Estos géneros son *Acanthocereus*, *Aporocactus*, *Disocactus*, *Epiphyllum* y *Selenicereus*. El género *Kimnachia* no se recupera. Korotkova *et al.* (2017) lo proponen como un nuevo género monotípico, debido a que tres terminales de *Kimnachia ramulosa* forman un clado con alto soporte (100 BS) y anidan fuera del clado de *Pseudorhipsalis* que incluye a la especie tipo. Los autores argumentan que si bien *K. ramulosa* exhibe características morfológicas vegetativas y reproductivas que comparte con

el resto de las especies de *Pseudorhipsalis*, presenta sutiles diferencias que estarían apoyando su exclusión, como la presencia de un tubo floral más corto y la generación de frutos sin polinización. Aunado a las diferencias morfológicas, también refieren la distribución como otra característica que apoyaría su propuesta. *Kimnachia ramulosa* se distribuye desde México y América central hasta el oeste de Sudamérica y las Antillas (Haití, Jamaica), mientras que las especies de *Pseudorhipsalis* tienen una distribución más restringida, se encuentran principalmente en Costa Rica y Panamá (Barthlott *et al.*, 2015). Por otra parte, el género aquí identificado como *Pseudorhipsalis* que incluye a *K. ramulosa* no tiene un soporte robusto, sino moderado (72 BS, 0.69 PP); sin embargo, se resuelve como un grupo monofilético.

Relevancia de los análisis combinados y la morfología

Nuestro análisis combinado resolvió la relación de *Disocactus*, *Epiphyllum* y *Pseudorhipsalis*, a diferencia de los análisis filogenéticos previos realizados solamente con datos moleculares (Cruz *et al.*, 20016; Korotkova *et al.*, 2017). En la reconstrucción filogenética de Cruz *et al.* (2016) el análisis BI favorece la hermandad de *Disocactus* y *Epiphyllum*; mientras que, MP reconoce la hermandad de *Epiphyllum* y *Pseudorhipsalis*. En los análisis de BI y ML realizados por Korotkova *et al.* (2017) *Disocactus* y *Epiphyllum* forman una politomía junto con el clado de *K. ramulosa*. Sin embargo, al incluir la información molecular y morfológica en el análisis combinado, *Disocactus* y *Epiphyllum* se recuperan como géneros hermanos en los tres análisis (MP, ML e BI). Estos dos géneros comparten las flores con longitud mayor a 2.5 cm y llevan escamas en el pericarpelo y tubo receptacular. Además, la distribución es complementaria, ya que *Disocactus* se distribuye desde el Centro-Norte de México hasta Costa Rica y crece en los bosques mesófilos de

montaña (830-3500 msnm). *Epiphyllum* se distribuye desde el Centro-Sur de México hasta Argentina, pero la mayor riqueza de especies se encuentra entre el sur de México y Costa Rica, en bosques tropicales perennifolios y bosques mesófilos de montaña (0-2300 msnm) (Bauer, 2003; Hunt *et al.*, 2006).

Solo la combinación de datos permitió revelar relaciones que no son recuperadas cuando se emplea una sola fuente de información. Se ha argumentado que la generación de filogenias más resueltas es una de las bondades de los análisis combinados. Esta mejoría se debe a que la interacción de los datos permite revelar y amplificar la señal filogenética, que es común entre las particiones aunque dicha señal es débil por separado (Gatesy *et al.*, 1999; Thompson *et al.*, 2012). Además, los valores de los soportes de rama se incrementaron entre 1% y 27%, principalmente en los nodos internos, en comparación con los resultados obtenidos por Cruz *et al.* (2016). Las relaciones de hermandad entre *Aporocactus* y *Selenicereus* y la relación *Disocactus*, *Epiphyllum* y *Pseudorhipsalis* tuvieron el aumento más significativo (27%). A nivel de género, también se presentó una mejoría en los soportes con respecto a los resultados de Korotkova *et al.* (2017), *Aporocactus* y *Disocactus* tuvieron el incremento más relevante (Tabla 6). El aumento en resolución y soportes es citado como la principal virtud de este tipo de análisis (Wortley y Scotland, 2006) y coincide con lo reportado en los estudios realizados para la subfamilia Ixoroideae (Andreasen y Bremer, 2000) y para los géneros del orden Dioscoreales (Caddick *et al.*, 2002) y *Poecilanthus* (Meireles *et al.*, 2014).

La crítica más fuerte al análisis combinado es que se basa en la suposición de que diferentes conjuntos de datos comparten la misma historia filogenética y evolucionan bajo las mismas reglas (Bull *et al.*, 1993; de Queiroz, 1993; de Queiroz *et al.*, 1995; Hillis 1995;

Miyamoto y Fitch, 1995). Sin embargo, es evidente que diferentes rasgos pueden tener distintos orígenes y estar bajo diferentes procesos evolutivos. Incluso dentro de una misma secuencia, los sitios individuales pueden presentar distintas tasas de evolución. El ejemplo más representativo es la tercera posición del codón, la cual tiene tasas de sustitución más elevadas que la primera y segunda posición ya que no está bajo fuertes presiones de selección (Huelsenbeck *et al.*, 1996). Se ha planteado que filogenias construidas con datos que poseen diferentes historias filogenéticas generan árboles incongruentes. Sin embargo, la incongruencia puede presentarse solo en una región del árbol sin afectarlo totalmente, por lo que la combinación de datos con diferentes historias filogenéticas no es una opción irracional (Wiens, 1998).

También se ha descartado el uso de datos morfológicos en los análisis filogenéticos argumentando que generan filogenias erróneas debido a la homoplasia y a que su contribución es mínima (Scotland *et al.*, 2003). Asimismo, se tiende a resaltar una de las principales bondades de los datos moleculares, que es la gran cantidad de sitios informativos que proporcionan (Hillis y Wiens, 2000). La matriz combinada utilizada en este trabajo tuvo una longitud de 5929 sitios, los datos moleculares proporcionaron 5910, de los cuales solo 6% (365) fueron parsimoniosamente informativos; mientras que los 19 datos restantes, que corresponden a los morfológicos resultaron 100% informativos. A pesar de que estos 19 sitios representan solo 4% del total de los sitios parsimoniosamente informativos, la contribución de los datos morfológicos fue suficiente para producir un incremento en la resolución de las relaciones filogenéticas. Estos resultados son congruentes con lo reportado por Wortly y Scotland (2006), quienes al analizar 26 conjuntos de datos combinados procedentes de análisis realizados con briofitas,

angiospermas, vertebrados e invertebrados encontraron que los datos morfológicos pueden tener una menor contribución a los sitios informativos en los análisis combinados (11% aproximadamente), pero tienen un efecto significativo sobre el resultado filogenético, aunque su efecto no sea tan grande como el de los datos moleculares. En términos de resolución, los resultados claramente indican el efecto positivo de la adición de la morfología en los análisis combinados.

Caracteres con valor taxonómico

El hábito arbustivo y la presencia de tallos dimórficos son revelados como caracteres sinapomórficos de Hylocereeae. Nuestros resultados son congruentes con lo reportado por Hernández-Hernández *et al.* (2011), quienes determinaron que la forma de crecimiento para el clado “Hylocereeae ampliado” es arbustiva. El hábito arbustivo (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2012) es referido por Hernández-Hernández *et al.* (2011) como forma de crecimiento, considerando la ausencia de un tronco principal o la presencia de una ramificación basítona (Buxbaum, 1951; Anderson, 2001; Arias y Terrazas, 2006). La presencia de tallos dimórficos (los tallos jóvenes son distintos de los adultos) fue inicialmente propuesto como una característica de *Peniocereus* subgénero *Pseudoacanthocereus* (Sánchez-Mejorada, 1974). Posteriormente Arias *et al.* (2005) corroboran esta observación y señalan que cambios similares se presentan en algunas especies de la tribu Hylocereeae. Mencionan que los cambios pueden ser muy significativos como los que presentan las especies de *Disocactus* y *Epiphyllum*, o pueden ser menos evidentes como en *Acanthocereus*, *Hylocereus*, *Selenicereus* y *Weberocereus*. Los resultados aquí obtenidos demuestran que dicho rasgo es sinapomórfico para la tribu. Todas las especies analizadas de Hylocereeae presentan la condición de tallos dimórficos.

Además, la forma de crecimiento escandente es exclusiva de *Acanthocereus*. Bravo-Hollis (1978) comenta que los tallos de las especies de este género pueden ser erguidos, trepadores o decumbentes. Sin embargo, consideramos que las especies analizadas no son trepadoras al no desarrollar raíces aéreas, las cuales son fundamentales para sostenerse a un soporte (Font Quer, 1979). En el crecimiento escandente la planta crece erguida y alcanza tallas considerables porque se sostiene en los soportes sin estructuras especializadas. Por otra parte, dos caracteres de la semilla son exclusivos de seis especies de *Epiphyllum*, el complejo hilo-micropilar (HM) en forma de cerradura y la presencia de reminiscencia de ariloide. Encontramos que la forma del complejo HM es compartida para *Epiphyllum hookeri* subsp. *hookeri*, *E. hookeri* subsp. *pittieri*, *E. phyllanthus*, *E. cartagense*, *E. pumilum* y *E. thomasianum* subsp. *costaricense*. Barthlott y Hunt (2000) examinaron solamente la semilla de *E. phyllanthus* y establecieron que la forma del complejo HM es de banda curva, similar a la que se presenta en *Selenicereus*. Sin embargo, la forma del complejo HM para las seis especies de *Epiphyllum* es distinta a la de las especies de *Selenicereus*. Proponemos que la forma de cerradura es más adecuada para las seis especies de *Epiphyllum* antes mencionadas. La presencia de reminiscencia de ariloide es consistente con lo reportado por Almeida *et al.* (2013). En la descripción que estos autores proporcionan de la semilla de *E. phyllanthus* mencionan la presencia de un arilo en la región HM. Si bien, la imagen donde señalan el arilo es un corte anatómico longitudinal de la semilla y no es clara la estructura, es visible en la imagen lateral de la semilla madura tomada con MEB y consideramos que es equivalente al carácter aquí definido como presencia de reminiscencia de ariloide.

Respecto a los caracteres florales aquí considerados, 74% resultaron ser homoplásicos, por ejemplo, las flores de antesis diurna con tépalos internos coloridos o las flores nocturnas con tépalos internos claros, han surgido más de una vez en Hylocereeae; así como los estambres arreglados en dos series que se ha propuesto como posible sinapomorfia para *Disocactus* por Cruz *et al.* (2016). Sin embargo, se identificaron combinaciones exclusivas de homoplasias que definirían a los géneros carentes de sinapomorfias. *Aporocactus* presenta crecimiento indeterminado, flores de vida larga con antesis diurna, tépalos internos coloridos, estambres insertos en dos series y polinizada por aves; además, semillas brillosas y complejo HM oval. *Disocactus* estaría definido por la presencia de flores con los estambres insertos en dos series, semillas menores a 3 mm, complejo HM oval y sin reminiscencia de ariloide. *Selenicereus* exhibe flores de antesis nocturna con tépalos internos de color claro, de vida corta y polinizada por esfíngidos. *Pseudorhipsalis* presenta flores pequeñas con antesis diurna, tépalos internos de color claro, de vida corta, escamas en el tubo paralelas, polinizadas por aves; semillas menores a 3 mm, complejo HM oval y reminiscencia de ariloide ausente.

Evolución al epifitismo en Hylocereeae

Nuestros resultados apoyan que la forma de crecimiento epífita en Hylocereeae se originó a partir de una forma de crecimiento escandente (0.99 P). Esto es congruente con lo sugerido por Wallace y Gibson (2002), quienes consideran que el ancestro de Hylocereeae presentaba esta última forma de crecimiento. Se ha propuesto que la transición al epifitismo debió ocurrir de una manera gradual, desde especies terrestres y trepadoras hasta especies con características de epífitas (Buxbaum, 1958). Sin embargo, nuestros resultados plantean que el epifitismo se originó directamente de la forma de crecimiento escandente (0.99 P).

Este resultado es congruente con lo reportado por Hernández-Hernández *et al.* (2011), quienes encuentran que el ancestro de Hylocereeae sin *Acanthocereus* es epífita (0.99 P); mientras que la forma de crecimiento trepadora diversificó a partir del epifitismo (0.99 P). Esta hipótesis es factible, ya que se ha considerado que el epifitismo no es un proceso evolutivo unidireccional (Zotz, 2016). Existen diversos casos de reversiones, uno de los cuales es el género *Huperzia*, donde estudios moleculares sugieren que las especies terrestres que se distribuyen en las regiones altas de los Andes no se originaron de ancestros terrestres, sino de especies epífitas de la región montañosa (Wikström *et al.*, 1999).

Se ha planteado que la conversión al epifitismo a partir de una forma de crecimiento terrestre estuvo acompañada de diversas modificaciones estructurales como el desarrollo de raíces adventicias, aun cuando el tallo permanece unido a la planta hospedera; el desarrollo de tallos parecidos a hojas o costillas estrechas; la pérdida de estructuras asociadas al mantenimiento de una postura erguida y la reducción o pérdida de espinas (Wallace y Gibson, 2002; Calvente *et al.*, 2011). La reconstrucción de estados ancestrales apoya que la adquisición de la forma de crecimiento epífita implicó dos transformaciones significativas, el paso de un tallo con costillas a un tallo en forma de filocladio (0.99 P) y la pérdida de espinas (0.99 P); mientras que la forma de crecimiento trepador está relacionada con la capacidad de desarrollar raíces aéreas a lo largo del tallo (0.99 P) y la preservación de un tallo con costillas (1.0 P) y espinas (0.99 P).

Nuestro estudio representa el primer análisis realizado para la tribu Hylocereeae bajo un contexto de evidencia total. Los resultados obtenidos revelan que es más adecuada la inclusión de los datos morfológicos en la reconstrucción filogenética, que su exclusión del análisis. Además, sugieren que morfológicamente la tribu exhibe una complicada

historia evolutiva. Los caracteres tradicionales empleados para el reconocimiento de géneros han surgido más de una vez, posiblemente en respuesta a la presión ejercida por el ambiente y/o los polinizadores. Si bien, nuestro análisis aportó información valiosa sobre las relaciones filogenéticas y la evolución de caracteres dentro de Hylocereeae, es una primera aproximación, debido a que no incluyó a todas las especies de la tribu. Por lo tanto, es indispensable incorporar las especies faltantes para establecer las relaciones filogenéticas y obtener el panorama completo de la evolución de caracteres. Adicionalmente se requiere un análisis biogeográfico para identificar qué factores han intervenido en la distribución actual de la tribu.

5.- Literatura citada

- Almeida O.J.G., A.A.S. Paoli, L.A. Souza y J.H. Cota-Sánchez. 2013. Seedling morphology and development in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae: Hylocereeae). *Journal of the Torrey Botanical Society* **140**(2): 196-214.
- Anderson E.F. 2001. The cactus family. Portland: Timber Press.
- Andreasen K. y B. Bremer. 2000. Combined phylogenetic analysis in the Rubiaceae-Ixoroideae: morphology, nuclear and chloroplast DNA data. *American Journal of Botany* **87**(11): 1731-1748.
- Arias S., T. Terrazas y K. Cameron. 2003. Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany* **28**(3): 547-557.
- Arias S., T. Terrazas, H.J. Arreola-Nava, M. Vázquez-Sánchez y K.M. Cameron. 2005. Phylogenetic relationships in *Peniocereus* (Cactaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Journal of Plant Research* **118**: 317-328.
- Arias S. y T. Terrazas. 2006. Análisis cladístico del género *Pachycereus* (Cactaceae) con caracteres morfológicos. *Brittonia* **58**: 197-216.
- Arroyo-Consultchi G., T. Terrazas, S. Arias y H.J. Arreola-Nava. 2006. The systematic significance of seed morphology in *Stenocereus* (Cactaceae). *Taxon* **55**(4): 983-992.
- Barthlott W. y D. Hunt. 2000. Seed-diversity in the Cactaceae subfam. Cactoideae. *Succulent Plant Research* **5**: 1-173.

- Barthlott W., K. Burstedde, J.L. Geffert, P.L. Ibsch, N. Korotkova, A. Miebach, M. A. Rafiqpoor, A. Stein y J. Mutke. 2015. Biogeography and biodiversity of cacti. *Schumannia* 7.
- Bauer R. 2002. The genus *Pseudorhopsalis* Britton & Rose. *Haseltonia* 9: 94-120.
- Bauer R. 2003. A synopsis of the tribe Hylocereeae F. Buxb. *Cactaceae Systematics Initiatives* 17: 3-63.
- Bravo-Hollis H. 1978. Las cactáceas de México, vol I. México D.F., Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bull J.J., J.P. Huelsenbeck, C.W. Cunningham, D.L. Swofford y P.J. Waddell. 1993. Partitioning and combining data in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42(3): 384-397.
- Buxbaum F. 1951. Morphology of cacti, section I: Roots an stems. Abbey Garden Press, Pasadena, California, USA.
- Buxbaum F. 1958. The phylogenetic division of the subfamily Cereoideae, cactaceae. *Madroño* 14: 177-216.
- Bybee S.M., J.M. Zaspel, K.A. Beucke, C.H. Scott, B.W. Smith y M.A. Branham. 2010. Are molecular data supplanting morphological data in modern phylogentic studies?. *Systematic Entomology* 35: 2-5.
- Caddick L.R., P.J. Rudall, P. Wilkin, T.A.J. Hedderson y M. W. Chase. 2002. Phylogenetics of Dioscoreales based on combined analyses of morphological an molecular data. *Botanic Journal of the Linnean Society* 138: 123-144.

- Calvente A., D.C. Zappi, F. Forest y L.G. Lohmann. 2011. Molecular phylogeny, evolution, and biogeography of South American epiphytic cacti. *International Journal of Plant Sciences* **172**(7): 902-914.
- Chase M.W. y A.V. Cox 1998. Gene sequences, collaboration and analysis of large data sets. *Australian Systematic Botany* **11**: 215-229.
- Cruz M.A., S. Arias y T. Terrazas. 2016. Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Disocactus* (Cactaceae), based on the DNA sequences of six chloroplast markers. *Willdenowia* **46**(1): 145-164.
- Darriba D., G.L. Taboada, R. Doallo y D. Posada. 2012. jModelTest2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**(8):772.
- De Queiroz A. 1993. For Consensus (Sometimes). *Systematic Biology*, **42**(3):368-372.
- De Queiroz A., M.J. Donoghue y J. Kim. 1995. Separate versus combined analysis of phylogenetic evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **26**: 657-681.
- Font Quer, P. 1979. Diccionario de botánica. Barcelona. Editorial Labor.
- Frank A.R., B.J. Cochrane y J.R. Garey. 2013. Phylogeny, biogeography, and infrageneric classification of *Harrisia* (Cactaceae). *Systematic Botany* **38**(1): 210-223.
- Gatesy J., P. O'Grady y R.H. Baker. 1999. Corroboration among data sets in simultaneous analysis: Hidden support for phylogenetic relationships among higher level Artiodactyl taxa. *Cladistic*, **15**: 271-313.

- Giribet G. 2015. Morphology should not be forgotten in the era of genomics - a phylogenetic perspective. *Zoologischer Anzeiger* **256**:96-103.
- Griffith M.P. 2002. *Grusonia pulchella* classification and its impacts on the genus *Grusonia*: morphological and molecular evidence. *Haseltonia* **9**: 86-93.
- Guerrero P.C., M.T.K. Arroyo, R.O. Bustamante, M. Duarte, T.K. Hagemann y H.E. Walter. 2011. Phylogenetics and predictive distribution modeling provide insights into the geographic divergence of *Eriosyce* subgen. *Neoporteria* (Cactaceae). *Plant Systematic and Evolution* **297**: 113-128.
- 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). *American Journal of Botany* **98**(1): 44-61.
- Hernández-Hernández T., J.W. Brown, B.O. Schlumpberger, L.E. Eguiarte y S. Magallón. 2014. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the new world succulent biome. *New Phytologist* **202**: 1382-1397.
- Hillis D.M. 1995. Approaches for assessing phylogenetic accuracy. *Systematic Biology*, **44**(1): 3-16.
- Hillis D.M. y J.J. Wiens. 2000. Molecules versus morphology in systematics: conflicts, artifacts, and misconceptions. En Wiens J.J. (ed.): *Phylogenetic analysis of morphological data*. Smithsonian Institution Press, Washintong, USA.

- Huelsenbeck J.P., J.J. Bull y C.W. Cunningham. 1996. Combining data in phylogenetic analysis. *Tree* **11**(4): 152-158.
- Huelsenbeck J.P. y F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* **17**(8): 754-755.
- Hunt D., N.P. Taylor y G. Charles. 2006. The new cactus lexicon. Milborne Port: Dh Books.
- Katoh K., K. Misawa, K. Kuma y T. Miyata. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleid Acids Research* **14**: 3059-3066.
- Kimnach M. 1961. *Disocactus ramulosus*. *Cactus and Succulent Journal (US)* **33**(1):11-16
- Kimnach M. 1993. The genus *Disocactus*. *Haseltonia* **1**:95-139
- Kluge A.G. 1989. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology* **38**(1): 7-25.
- Kumar S., G. Stecher y K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* **33**: 1870-1874.
- Korotkova N., L. Zabel, D. Quandt y W. Barthlott. 2010. A phylogenetic analysis of *Pfeiffera* and the reinstatement of *Lymanbensonina* as an independently evolved lineage of epiphytic Cactaceae within a new tribe Lymanbensonieae. *Willdenowia* **40**: 151-172.

- Korotkova N., T. Borsch y S. Arias. 2017. A phylogenetic framework for the Hylocereeae (Cactaceae) and implications for the circumscription of the genera. *Phytotaxa* **327**(1):1-46.
- Larridon I., H.W. Walter, P.C. Guerrero, M. Duarte, M.A. Cisternas, C.P. Hernández, K. Bauters, P. Asselman, P. Goetghebeur y M.S. Samain. 2015. An integrative approach to understanding the evolution and diversity of *Copiapoa* (Cactaceae), a threatened endemic Chilean genus from the Atacama Desert. *American Journal of Botany* **102**(9): 1506-1520.
- Lee M.S.Y. y A. Palci. 2015. Morphological phylogenetics in the genomic age. *Current Biology*, **25**:922-927.
- Lewis P.O. 2001. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Systematic Biology* **50**(6): 913-925.
- Maddison W.P. y D.R. Maddison. 2017. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.2 <http://mesquiteproject.org>.
- Majure L.C., R. Puente, M.P. Griffith, W.S. Judd, P.S. Soltis y D.E. Soltis. 2012. Phylogeny of *Opuntia s.s.* (Cactaceae): clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany* **99**(5): 874-864.
- Meireles J.E., A.M.G. Azevedo-Tozzi y M. Lavin. 2014. A phylogenetic analysis of molecular and morphological data reveals a paraphyletic *Poecilanthe* (Leguminosae, Papilionoideae). *Systematic Botany* **39**(4): 1142-1149

- Miyamoto M.M. y W.M. Fitch. 1995. Testing species phylogenies and phylogenetic methods with congruence. *Systematic Biology* **44**(1): 64-76.
- Müller K. 2005. SeqState: Primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA datasets. *Applied Bioinformatics* **4**(1): 65-69.
- Olmstead R.G. y J.A. Sweere. 1994. Combining data in phylogenetic systematics: an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae. *Systematic Biology* **43**(4): 467-481.
- Pagel M., A. Meade y D. Baker. 2004. Bayesian estimation of ancestral character states on phylogenies. *Systematic Biology* **53**: 673-684.
- Pyro R.A. 2015. Post-molecular systematics and the future of phylogenetics. *Trends in Ecology & Evolution* **30**(7): 384-389.
- Rambaut A. y A.J. Drummond. 2009. TRACER: MCMC trace analysis tool version v1.5.0. University of Oxford.
- Rios-Carrasco, S. 2017. Ontogenia de los apéndices seminales en la familia Cactaceae. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sánchez-Mejorada H. 1974. Revisión del género *Peniocereus* (Las Cactáceas). Dirección de Agricultura y Ganadería, Toluca.
- Sánchez D., S. Arias y T. Terrazas. 2014. Phylogenetic relationships in *Echinocereus* (Cactaceae, Cactoide). *Systematic Botany* **39**(4): 1183-1196.

- Sánchez D., T. Terrazas, D. Grego-Valencia y S. Arias. 2017. Phylogeny in *Echinocereus* (Cactaceae) based on combined morphological and molecular evidence: taxonomic implications. *Systematics and Biodiversity* **0**(0):1-17.
- Schlumberger B.O. 2012. A survey on pollination modes in cacti and a potential key innovation. En Patiny S. (ed.). 2012. Evolution of plant-pollinator relationships. Cambridge.
- Schlumpberger B.O. y S. Renner. 2012. Molecular phylogenetics of *Echinopsis* (Cactaceae): polyphyly at all levels and convergent evolution of pollination modes and growth forms. *American Journal of Botany* **99**(8): 1335-1349.
- Scotland R.W., R.G. Olmstead y J.R. Bennett. 2003. Phylogeny reconstruction: the role of morphology. *Systematic Biology* **52**(4): 539-548.
- Simmons M.P. y H. Ochoterena. 2000. Gaps as character in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology* **49**(2): 369-381.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* **30**(9): 1312-1313.
- Stöver B.C. y K.F. Müller. 2010. TreeGraph 2: combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. *BMC Bioinformatics* **11**(7): 1-9.
- Swofford D.L. 2002. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) 4.0. Sunderland: Sinauer Associates.

- Thompson R.S., E.V. Bärman y R.J. Asher. 2012. The interpretation of hidden support in combined data phylogenetics. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **50**(4): 251-263.
- Vázquez-Sánchez M., T. Terrazas y S. Arias. 2012. El hábito y la forma de crecimiento en la tribu Cacteeae (Cactaceae, Cactoideae). *Botanical Sciences* **90**(2): 1-12.
- Vázquez-Sánchez M., T. Terrazas, S. Arias y H. Ochoterena. 2013. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteeae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity* **11**(1): 103-116.
- Vázquez-Sánchez M., T. Terrazas, D. Grego-Valencia y S. Arias. 2017. Growth form and wood evolution in the tribe Cacteeae (Cactaceae). *Willdenowia* 47(1): 49-67.
- Wallace R.S. y A.C. Gibson. 2002. Evolution and systematics. En: Nobel P.S. (ed.), *Cacti: biology and uses*. California, USA. University of California Press.
- Wiens J.J. 1998. Combining data sets with different phylogenetic histories. *Systematic Biology* **47**(4): 568-581.
- Wikström N., P. Kenrick y M. Chase. 1999. Epiphytism and terrestrialization in tropical *Huperzia* (Lycopodiaceae). *Plant Systematics and Evolution* **218**: 221-243
- Wortley A. y R.W. Scotland. 2006. The effect of combining molecular and morphological data in published phylogenetic analyses. *Systematic Biology* **55**(4): 677-685.
- Zotz, G. 2016. *Plants on plants- the biology of vascular epiphytes*. Springer, Switzerland

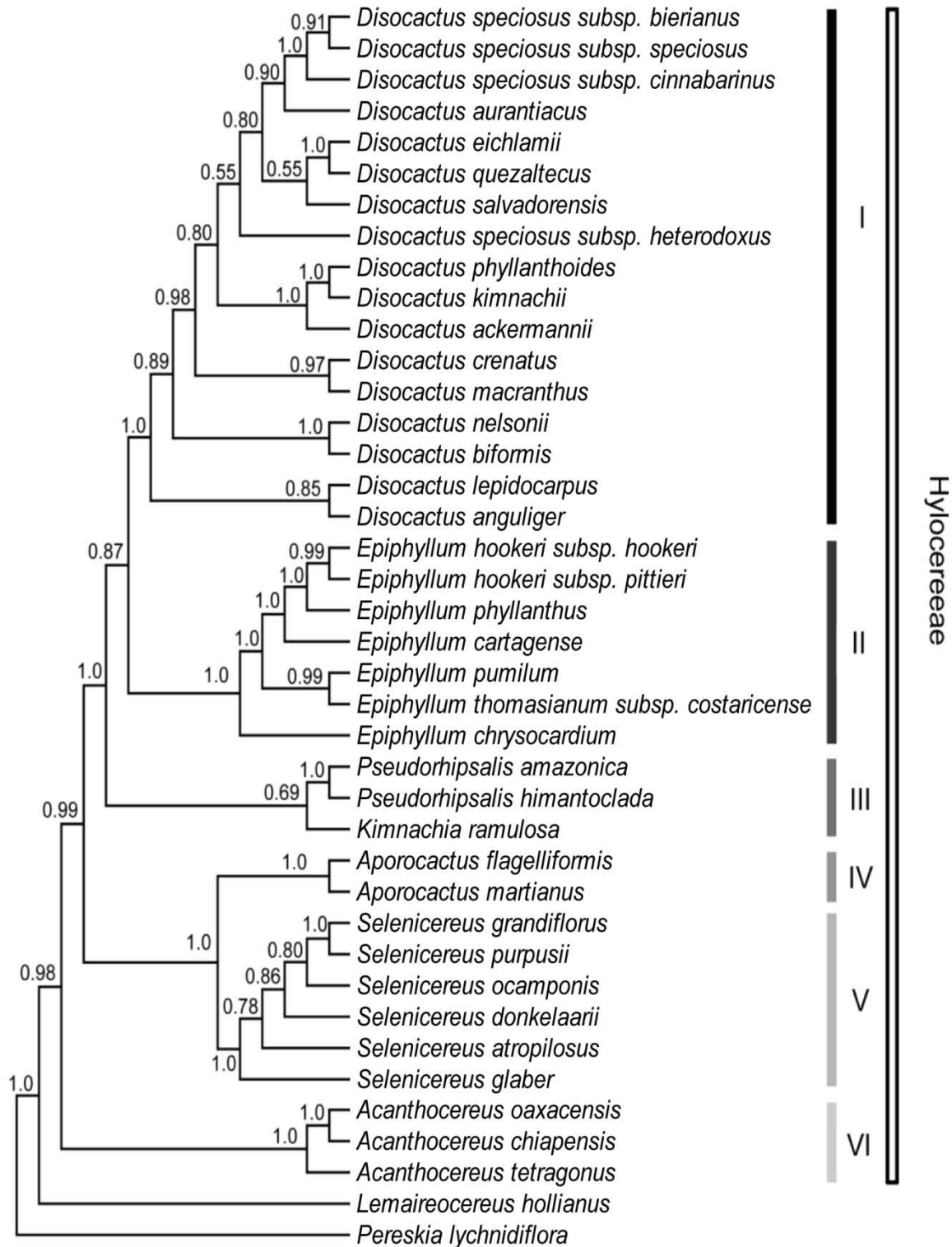


Figura 5. Topología del árbol de mayoría al 50% obtenido de la inferencia bayesiana (BI). Los números en las ramas indican los valores de probabilidad posterior (PP) como soporte de rama.

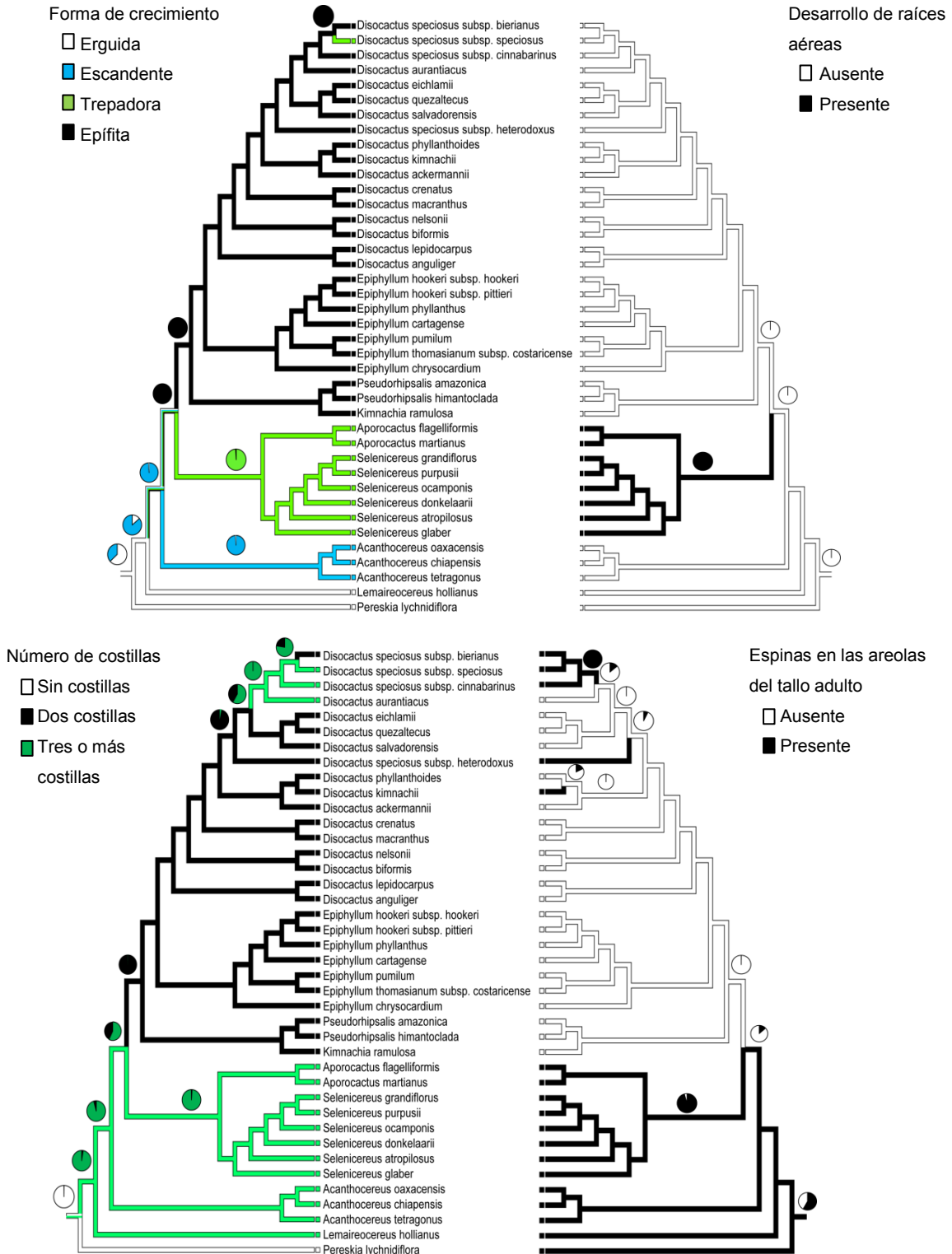


Figura 6. Reconstrucción de estados ancestrales de cuatro caracteres relevantes de tallo (forma de crecimiento, desarrollo de raíces aéreas a lo largo del tallo, número de costillas y espinas en las areolas del tallo adulto). El color de la rama indica la reconstrucción realizada con MP. Los diagramas circulares representan las probabilidades de la reconstrucción con ML.

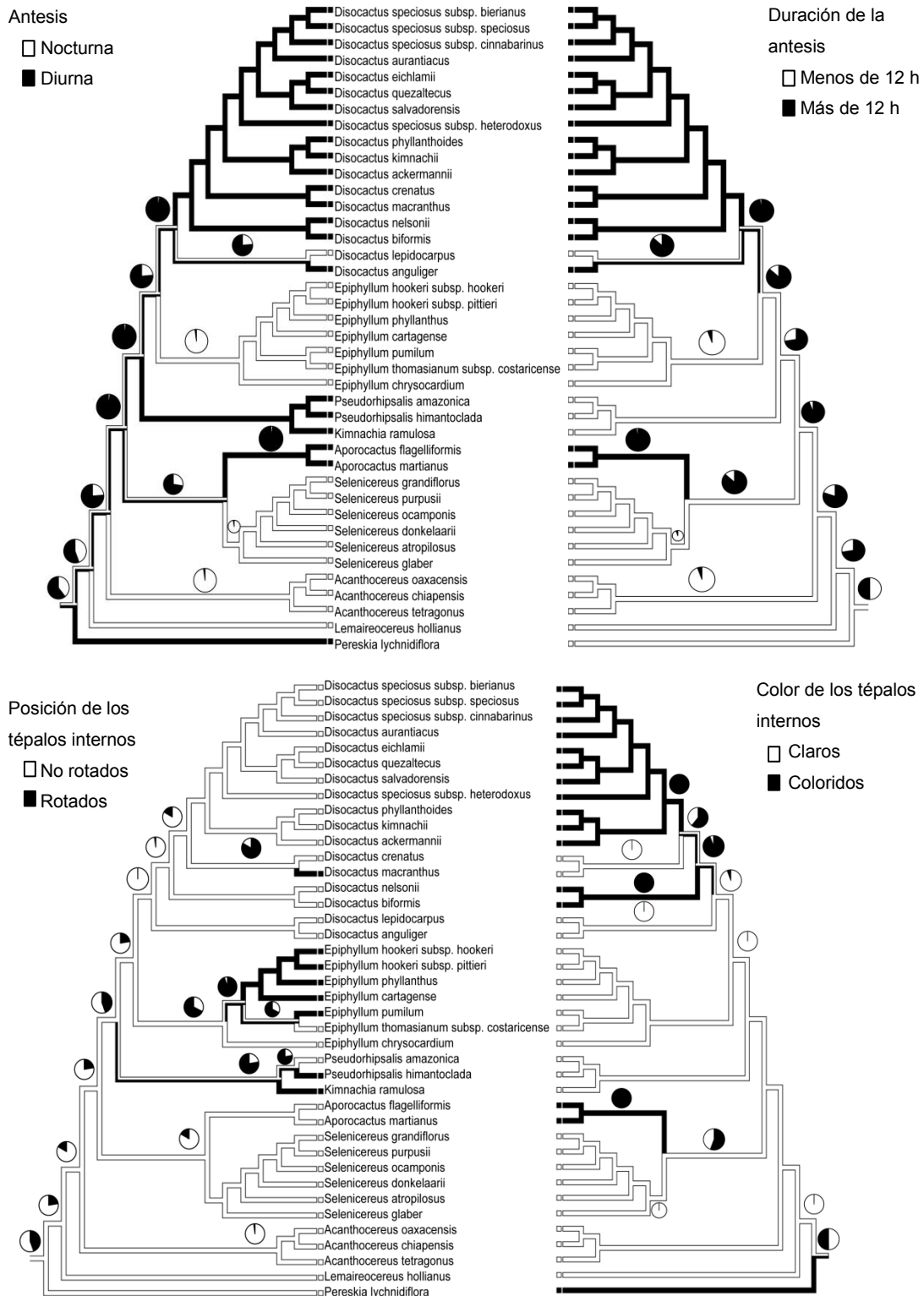


Figura 7. Reconstrucción de estados ancestrales de cuatro caracteres relevantes de la flor (antesis, duración de la antesis, posición y color de los tépalos internos). El color de la rama indica la reconstrucción realizada con MP. Los diagramas circulares representan las probabilidades de la reconstrucción con ML.

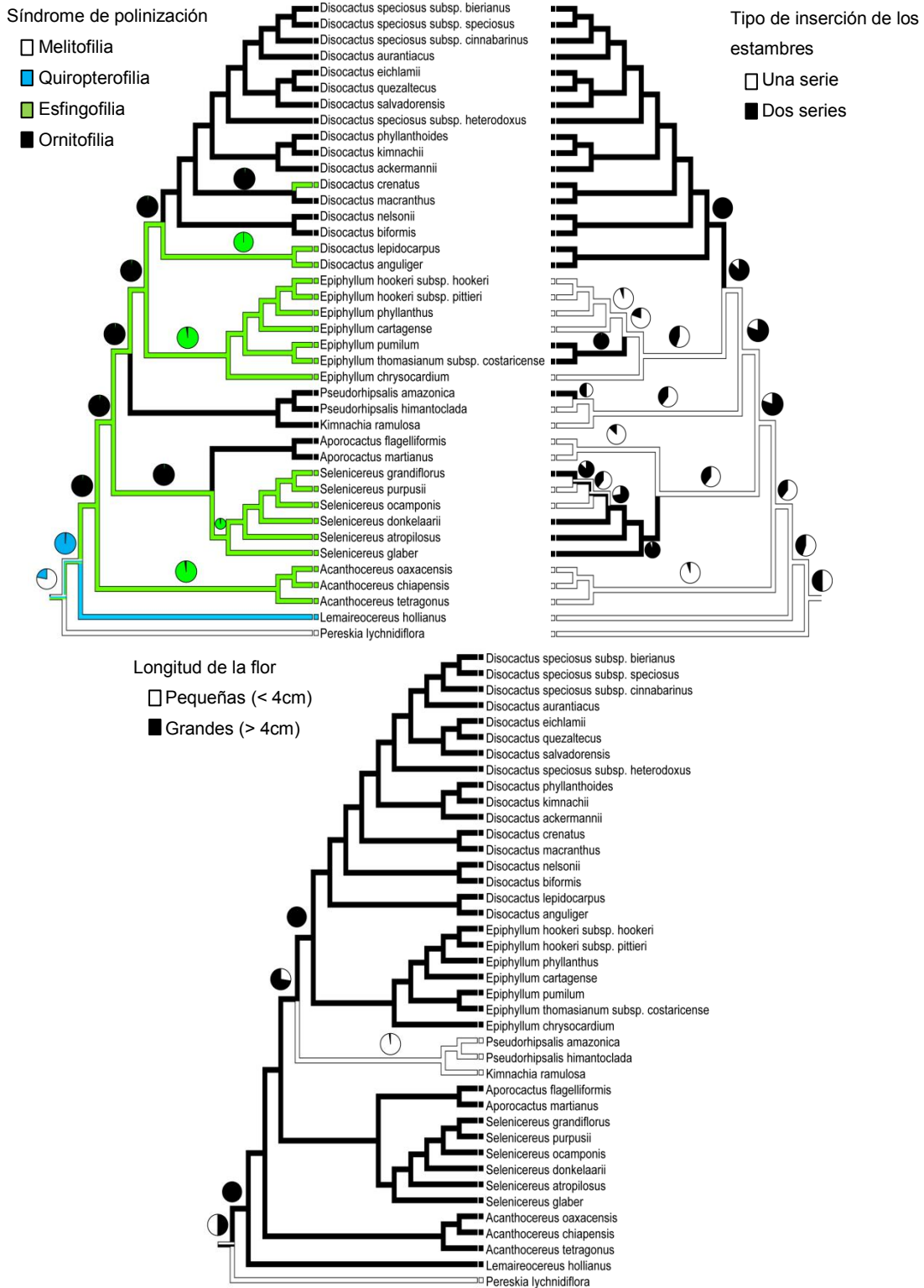


Figura 8. Reconstrucción de estados ancestrales de tres caracteres relevantes de la flor (síndrome de polinización, tipo de inserción de los estambres y longitud de la flor). El color de la rama indica la reconstrucción realizada con MP. Los diagramas circulares representan las probabilidades de la reconstrucción con ML.

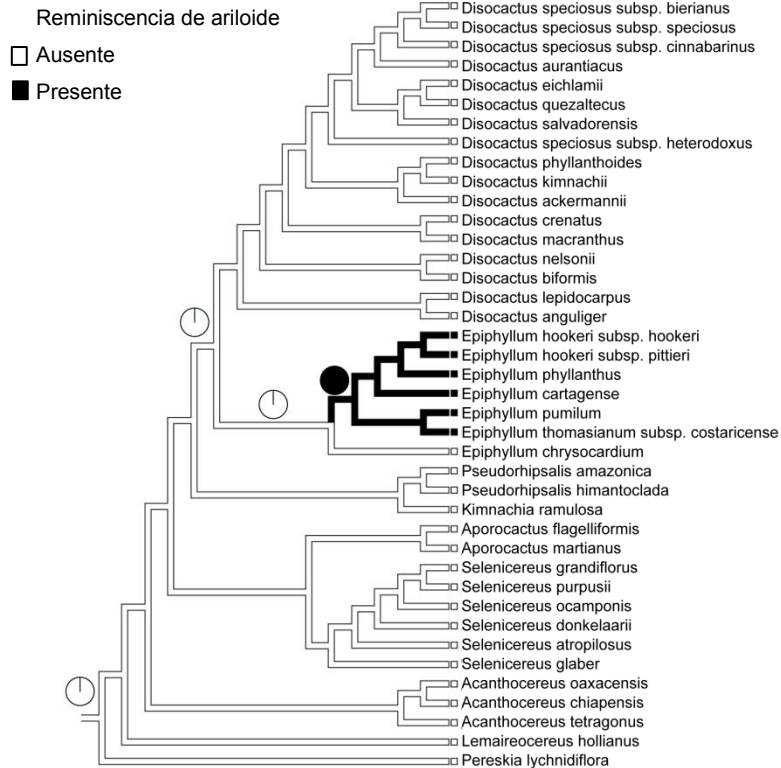
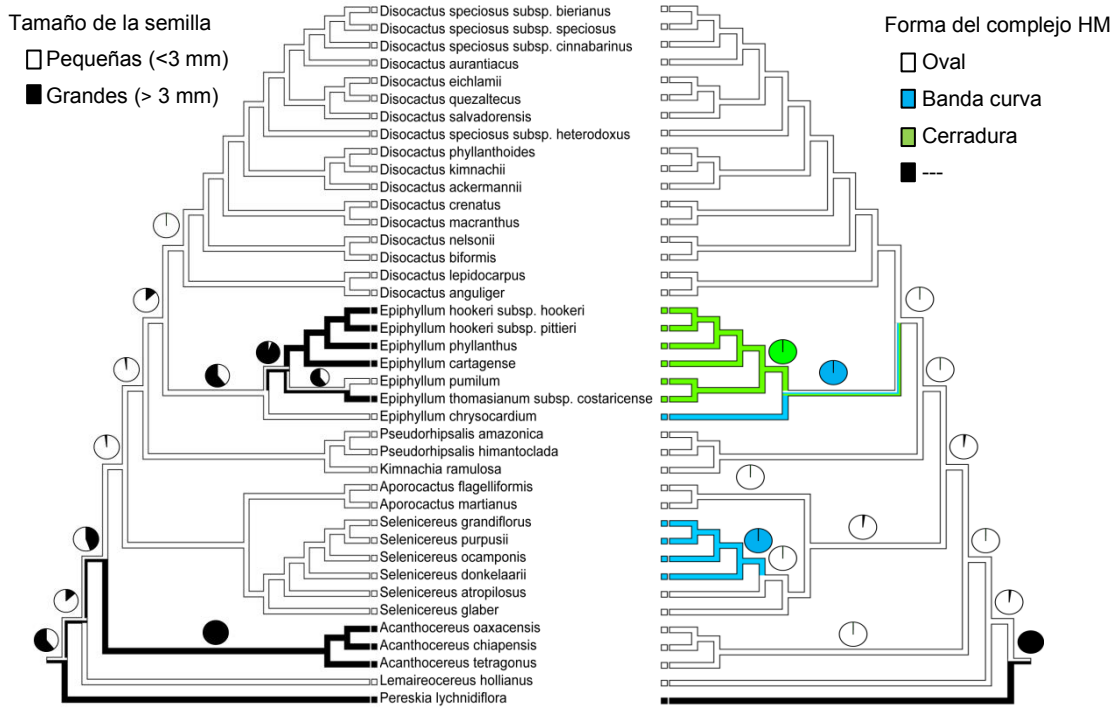


Figura 9. Reconstrucción de estados ancestrales de tres caracteres relevantes de la semilla (tamaño de la semilla, forma del complejo hilo-micropilar y reminiscencia de ariloide). El color de la rama indica la reconstrucción realizada con MP. Los diagramas circulares representan las probabilidades de la reconstrucción con ML.

Tabla 5. Caracteres moleculares y morfológicos que apoyan a los seis clados y las relaciones entre ellos.

Clado	Número de caracteres	Tipo de carácter, marcador y posición en el alineamiento
Hylocereeae	7 moleculares	Sustituciones: <i>psbA-trnH</i> (1528), <i>trnL-F</i> (2217, 3090, 3129), <i>rpl16</i> (3551), <i>ycf1</i> (5364, 5411)
	2 morfológicos	Hábito arbustivo Tallos dimórficos
I.- <i>Disocactus</i> (Dis)	7 moleculares	Sustituciones: <i>matK</i> (712), <i>trnQ-rps16</i> (940), <i>trnL-F</i> (2496), <i>rpl16</i> (3617, 3917), <i>ycf1</i> (4490) Indel's: <i>rpl16</i> (3922-3926)
II.- <i>Epiphyllum</i> (Epi)	12 moleculares	Sustituciones; <i>trnQ-rps16</i> (947), <i>psbA-trnH</i> (1604, 1737, 1861), <i>trnL-F</i> (3045), <i>ycf1</i> (4656, 5479, 5525, 5581) Indel's: <i>psbA-trnH</i> (1762-1852), <i>rpl16</i> (3173-3180, 3809-3818)
II.- <i>Pseudorhipsalis</i> (+ <i>Kimnachia</i>) (Pse)	1 molecular	Sustitución: <i>rpl16</i> (3611)
IV.- <i>Aporocactus</i> (Apo)	9 moleculares	Sustituciones: <i>psbA-trnH</i> (1772, 1928, 2056), <i>trnL-F</i> (2161, 3155), <i>rpl16</i> (4040), <i>ycf1</i> (4859, 4951, 5489)
V.- <i>Selenicereus</i> (Sel)	12 moleculares	Sustituciones: <i>trnL-F</i> (2698-2772), <i>ycf1</i> (4854, 4858, 5657, 5667) Indel's: <i>psbA-trnH</i> (1762-1771), <i>trnL-F</i> (2370-2374), <i>rpl16</i> (2386-3291, 3879-3898, 3904-3904, 3909-4218)
VI.- <i>Acanthocereus</i> (Aca)	9 moleculares	Sustituciones: <i>trnQ-rps16</i> (1134), <i>rpl16</i> (4007), <i>ycf1</i> (4490, 4798, 4981, 5549, 5635) Indel's: <i>psbA-trnH</i> (1758-1847), <i>trnL-F</i> (2991-2996)
	1 morfológico	Forma de crecimiento escandente
Dis + Epi + Pse	3 moleculares	Sustituciones: <i>trnQ-rps16</i> (1072), <i>rpl16</i> (3852), <i>ycf1</i> (5314)
Apo + Sel	2 moleculares	Sustituciones: <i>trnQ-rps16</i> (870), <i>rpl16</i> (3775)
	1 morfológico	Desarrollo de raíces aéreas a lo largo del tallo

Tabla 6. Comparación de los soportes obtenidos del análisis combinado, con los resultados de Cruz *et al.* (2016) y Korotkova *et al.* (2017). MP-BS valores de bootstrap para máxima parsimonia; ML-BS valores de bootstrap para máxima verosimilitud; PP valores de probabilidad posterior para inferencia bayesiana.

Clado	Análisis Combinado	Cruz <i>et al.</i> , 2016	Korotkova <i>et al.</i> 2017
<i>Disocactus</i> (Dis)	1.00 PP 99 MP-BS 100 ML-BS	1.00 PP 96 MP-BS	1.00 PP 78 ML-BS
<i>Epiphyllum</i> (Epi)	1.00 PP 100 MP-BS 100 ML-BS	1.00 PP 100 MP-BS	1.00 PP 94 ML-BS
<i>Pseudorhipsalis</i> (+ <i>Kimmachia</i>) (Pse)	0.69 PP 72 MP-BS 59 ML-BS	-- PP -- MP-BS	-- PP -- ML-BS
<i>Aporocactus</i> (Apo)	1.00 PP 100 MP-BS 100 ML-BS	1.00 PP 100 MP-BS	0.66 PP -- ML-BS
<i>Selenicereus</i> (Sel)	1.00 PP 100 MP-BS 100 ML-BS	1.00 PP 100 MP-BS	1.00 PP 98 ML-BS
<i>Acanthocereus</i> (Aca)	1.0 PP 100 MP-BS 100 ML-BS	1.00 PP 100 MP-BS	1.00 PP 81 ML-BS
Dis + Epi	0.87 PP -- MP-BS 77 ML-BS	0.78 PP -- MP-BS	-- PP -- ML-BS
Dis + Epi + Pse	1.00 PP 91 MP-BS 97 ML-BS	0.99 PP 64 MP-BS	-- PP -- ML-BS
Apo + Sel	1.00 PP 89 MP-BS 100 ML-BS	1.00 PP 62 MP-BS	-- PP -- ML-BS

Apéndice 2. Listado de caracteres morfológicos y codificación.

Al final de cada carácter y su descripción se indica el código empleado en este estudio.

1.- Hábito. En la familia Cactaceae existen dos formas de hábito: arbóreo y arbustivo. Ambos hábitos presentan crecimiento secundario y son perennes, se distinguen por la altura y el tipo de ramificación. Las plantas de hábito arbóreo presentan un tronco definido y una ramificación mesótona o acrótona, como en *Pereskia*. Las plantas con hábito arbustivo son de talla más baja que la de un árbol y la ramificación es basítona, las ramas pueden ser decumbentes, postradas o péndulas (Vázquez-Sánchez *et al.*, 2012).

0= Arbóreo 1= Arbustivo

2.- Forma de crecimiento. En las cactáceas existen diversas formas de crecimiento, como “erguida” donde el tallo y las ramas crecen de manera vertical, como el caso de *Lemaireocereus*; escandente, donde los tallos se sostienen en diferentes soportes sin la ayuda de estructuras especializadas, como en *Acanthocereus*; trepadora, con la capacidad de sostenerse o trepar por medio de raíces adventicias o por sus tallos a un soporte, como en el caso de *Selenicereus* y epífita, donde los individuos crecen sobre un soporte diferente al suelo (Bravo-Hollis, 1978; Vázquez-Sánchez *et al.*, 2012), como en *Disocactus* y *Epiphyllum*.

0=Erguida 1=Escandente 2=Trepadora 3=Epífita

3.- Tipo de crecimiento. Las cactáceas presentan dos tipos de crecimiento: indeterminado o determinado. El crecimiento indeterminado, también llamado indefinido porque el tallo sigue creciendo siempre y cuando las condiciones ambientales sean favorables, se detiene

cuando está bajo condiciones de estrés. En el crecimiento determinado la elongación del tallo se detiene aun cuando las condiciones ambientales sean favorables y sobre este tallo crece otra rama derivada de un meristemo axilar, como en el caso de los filocladios de las epífitas (Gibson y Nobel 1986; Mauseth, 2006).

0= Determinado **1**=Indeterminado

4.-Desarrollo de raíces aéreas a lo largo del tallo. Son raíces adventicias que se desarrollan fuera del suelo, surgen de la epidermis de los espacios intercostales teniendo su origen en el tejido secundario del tallo (Bravo-Hollis, 1978). Se presentan en trepadoras y epífitas como: *Disocactus*, *Epiphyllum* y *Selenicereus*.

0=Ausente **1**=Presente

5.- Tallos dimórficos. Los tallos en las cactáceas pueden ser monomórficos o dimórficos. Los tallos monomórficos son aquellos que mantienen la misma morfología cuando son juveniles y adultos; mientras que los tallos dimórficos presentan diferencias morfológicas entre los tallos juveniles y los tallos adultos (Sánchez-Mejorada, 1974). Ejemplo, cuando jóvenes presentan tallos con costillas y areolas próximas; mientras que, cuando son adultos y fértiles los tallos presentan filocladios y areolas distantes.

0= Monomórficos **1**= Dimórficos

6.-Número de costillas. Las cactáceas pueden presentar costillas o no, siendo *Pereskia lychnidiflora* un ejemplo de este último caso. Aquellas que sí presentan costillas el número es variable, desde dos como en *Epiphyllum*, hasta 100 en algunas especies (Bravo-Hollis, 1978). *Selenicereus* presenta tres o más costillas. Por lo tanto, los estados de carácter son:

0=Sin costillas **1**=Dos costillas **2**=Tres o más costillas

7.-Espinass en las areolas del tallo maduro. La espina es un órgano lignificado en forma de prominencia larga, endurecida ya que incluye tejidos esclerosados además de epidérmicos (Bravo-Hollis, 1978; Font Quer, 1979).

0= Ausente **1**=Presente

8.- Antesis. En la familia Cactaceae la antesis (momento en el que abre la flor) puede ser diurna o nocturna. La antesis es diurna si la flor abre durante el día y nocturna si abre en la noche (Bravo-Hollis, 1978; Font Quer, 1979).

0= Nocturna **1**= Diurna

9.- Duración de la antesis. En las cactáceas la duración de la antesis (tiempo en que la flor permanece abierta) puede ser de vida corta o vida larga. Son de vida corta si las flores permanecen abiertas no más de un día, ejemplo *Pseudorhipsalis* y son de vida larga si persisten abiertas más de un día como en *Disocactus* (Bauer, 2002).

0= Vida corta **1**= Vida larga

10.- Posición de los tépalos internos. En las cactáceas los tépalos internos (unidad o miembro de un perianto no diferenciado) pueden estar rotados o no. Los tépalos internos rotados forman un ángulo de 90 grados con el tubo receptacular; mientras que los tépalos internos no rotados no forman un ángulo de 90 grados (Font Quer, 1979).

0= No rotado **1**=Rotado

11.-Color de los tépalos internos. Los tépalos son miembros del perianto no diferenciado en sépalos y pétalos. Se clasifican de acuerdo a su posición en: externos e internos (Bravo-Hollis, 1978). Los tépalos internos determinan el color de la flor, un rasgo floral relacionado con el tipo de polinizador (Smith y Goldberg, 2015). Las flores de colores llamativos (rojas, magenta, rosas, naranja) son polinizadas por aves, mientras que las flores con tonalidades claras generalmente son visitadas por abejas, polillas o murciélagos (Schlumpberger, 2012; Gorostiague y Ortega-Baes, 2016). Por lo tanto, se codificó el color de los tépalos internos en: claros (si el color predominante es blanco, crema o amarillo) y coloridos (si el color predominante es distinto del blanco, amarillo o crema).

0=Claros 1=Coloridos

12.-Síndrome de polinización. El síndrome es el conjunto de características florales como forma, color, néctar, cantidades relativas y tipo de polen, y esencias que atraen a los polinizadores específicos hacia flores particulares, permiten que se alimenten y excluyen a otros visitantes que podrían usurpar los recursos florales sin realizar la polinización efectiva (Faegri y Van Der Pijl, 1978). De acuerdo con Schlumpberger (2012) existen cuatro síndromes de polinización asociadas con las cactáceas: la melitofilia (flores polinizadas por abejas), la quiropterofilia (flores polinizadas por murciélagos), la esfingofilia (flores polinizadas por esfíngidos) y la ornitofilia (flores polinizadas por aves).

0= Melitofilia 1= Quiropterofilia 2= Esfingofilia 3=Ornitofilia

13.-Orientación de las escamas en el tubo. Las escamas presentes en el tubo receptacular de la flor de las cactáceas pueden presentar dos orientaciones. Paralelas al tubo (adpresas) o perpendiculares al mismo (Font Quer, 1979).

0=Paralelas 1= Perpendiculares

14.-Número de series de estambres. Los estambres en las flores de las cactáceas pueden estar insertos en una sola serie o en dos series (Bravo-Hollis, 1978).

0=Una serie 1=Dos series

15.-Longitud de la flor. La longitud de la flor se midió desde la base del pericarpelo hasta el ápice del perianto. De acuerdo a los análisis estadísticos se establecieron dos categorías.

0=Pequeñas (< 4 cm) 1=Grandes (> 4 cm)

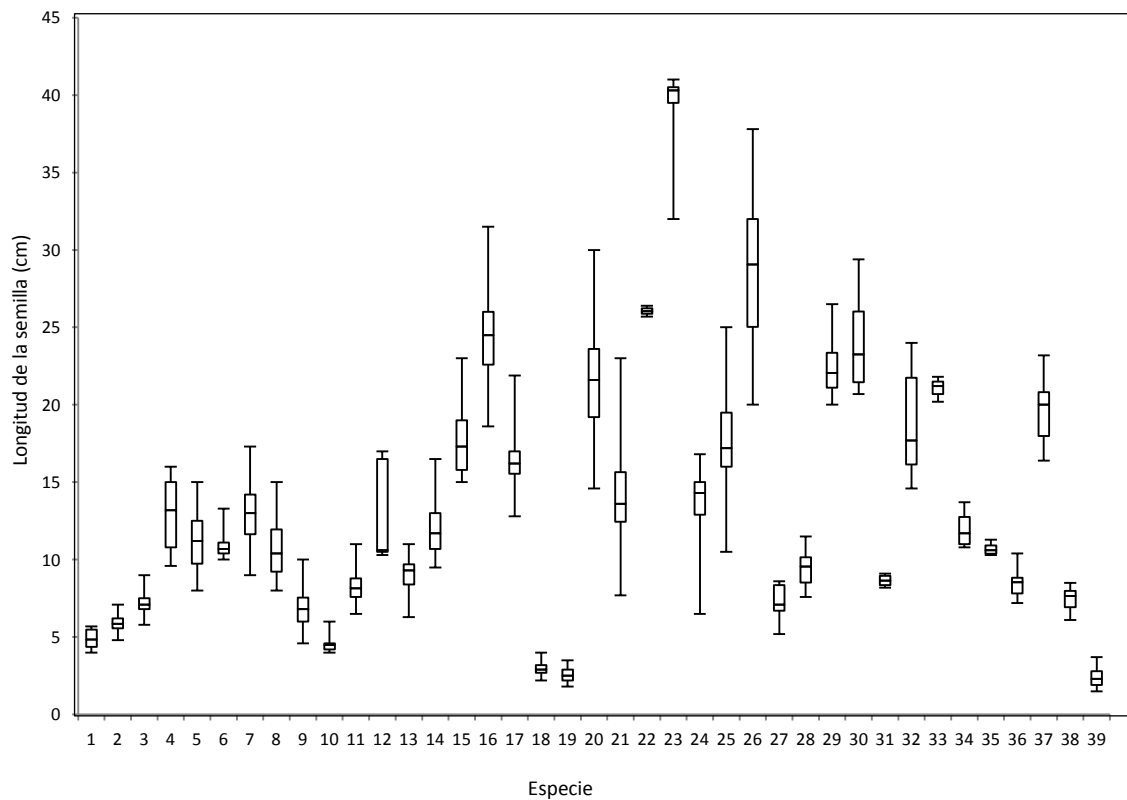


Figura 10. Gráfica de caja y bigotes obtenida del análisis estadístico de la longitud de la flor. En el eje Y se muestra la longitud en centímetros. En X las especies analizadas, los números corresponden a su posición en la tabla 7.

Tabla 7. Lista de especies analizadas en la figura 10.

Especie	Especie
1.- <i>Disocactus eichlamii</i>	21.- <i>Epiphyllum hookeri</i> subsp. <i>pittieri</i>
2.- <i>Disocactus quezaltecus</i>	22.- <i>Epiphyllum phyllanthus</i>
3.- <i>Disocactus salvadorensis</i>	23.- <i>Epiphyllum chrysocardium</i>
4.- <i>Disocactus aurantiacus</i>	24.- <i>Epiphyllum pumilum</i>
5.- <i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>bierianus</i>	25.- <i>Epiphyllum cartagense</i>
6.- <i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>cinnabarinus</i>	26.- <i>Epiphyllum thomsonianum</i> subsp. <i>costaricense</i>
7.- <i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>speciosus</i>	27.- <i>Aporocactus flagelliformis</i>
8.- <i>Disocactus speciosus</i> subsp. <i>heterodoxus</i>	28.- <i>Aporocactus martianus</i>
9.- <i>Disocactus macranthus</i>	29.- <i>Selenicereus ocamponis</i>
10.- <i>Disocactus biformis</i>	30.- <i>Selenicereus purpusii</i>
11.- <i>Disocactus nelsonii</i>	31.- <i>Selenicereus atropilosus</i>
12.- <i>Disocactus kinnachii</i>	32.- <i>Selenicereus donkelaarii</i>
13.- <i>Disocactus phyllanthoides</i>	33.- <i>Selenicereus grandiflorus</i>
14.- <i>Disocactus ackermannii</i>	34.- <i>Selenicereus glaber</i>
15.- <i>Disocactus anguliger</i>	35.- <i>Acanthocereus chiapensis</i>
16.- <i>Disocactus crenatus</i>	36.- <i>Acanthocereus oaxacensis</i>
17.- <i>Disocactus lepidocarpus</i>	37.- <i>Acanthocereus tetragonus</i>
18.- <i>Pseudorhipsalis amazonica</i>	38.- <i>Lemaireocereus hollianus</i>
19.- <i>Pseudorhipsalis himantoclada</i>	39.- <i>Pereskia lychnidiflora</i>
20.- <i>Epiphyllum hookeri</i> subsp. <i>hookeri</i>	

16.-Tamaño de la semilla. Barthlott y Hunt (2000) establecieron que el tamaño para semillas asimétricas corresponde a la longitud del eje más largo. Los análisis estadísticos definieron dos estados: menores de 3 mm y mayores de 3 mm (Figura 11; Tabla 8).

0= < 3 mm **1**= > 3 mm

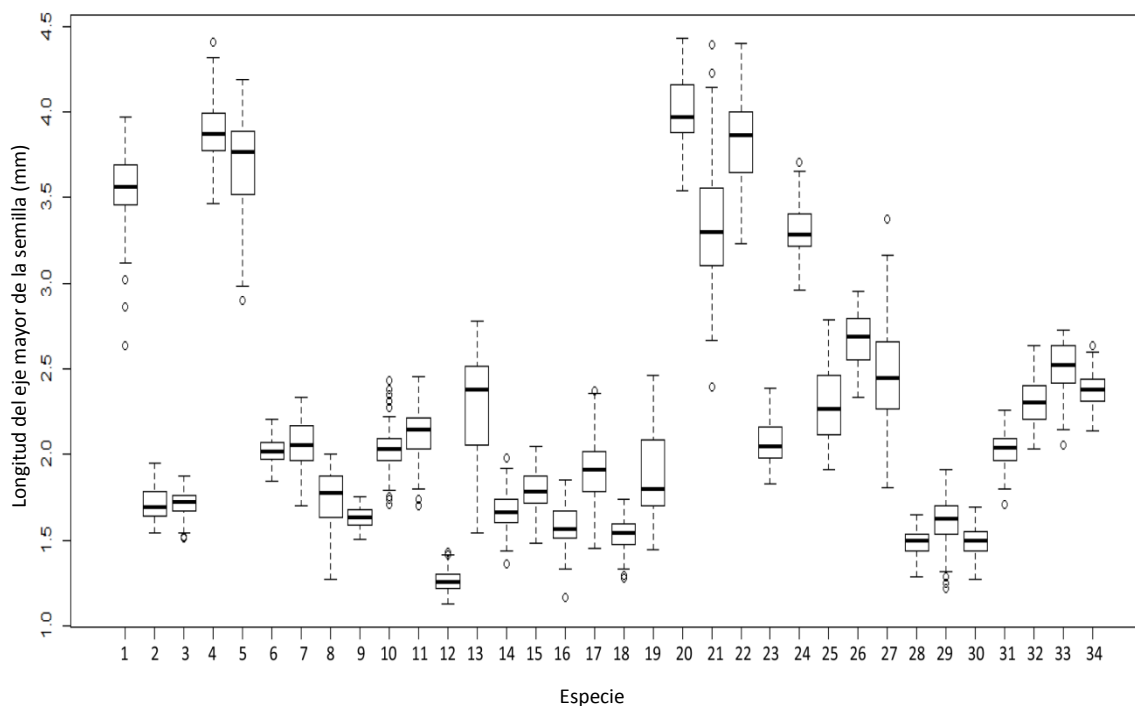


Figura 11. Gráfica de caja y bigotes obtenida del análisis estadístico del tamaño de la semilla. En el eje Y se muestra la longitud en milímetros del eje mayor de la semilla. En X las especies analizadas, los números corresponden a su posición en la tabla 8.

Tabla 8. Lista de especies analizadas en la figura 11.

Especie	Especie
1.- <i>Acanthocereus chiapensis</i>	18.- <i>Disocactus salvadorensis</i>
2.- <i>Aporocactus flagelliformis</i>	19.- <i>Disocactus speciosus subsp. speciosus</i>
3.- <i>Aporocactus martianus</i>	20.- <i>Epiphyllum hookeri subsp. hookeri</i>
4.- <i>Acanthocereus oaxacensis</i>	21.- <i>Epiphyllum phyllanthus</i>
5.- <i>Acanthocereus tetragonus</i>	22.- <i>Epiphyllum hookeri subsp. pittieri</i>
6.- <i>Disocactus ackermannii</i>	23.- <i>Epiphyllum pumilum</i>
7.- <i>Disocactus anguliger</i>	24.- <i>Epiphyllum thomsonianum subsp. costaricense</i>
8.- <i>Disocactus speciosus subsp. bierianus</i>	25.- <i>Selenicereus ocamponis</i>
9.- <i>Disocactus biformis</i>	26.- <i>Selenicereus purpusii</i>
10.- <i>Disocactus speciosus subsp. cinnabarinus</i>	27.- <i>Lemaireocereus hollianus</i>
11.- <i>Disocactus crenatus</i>	28.- <i>Pseudorhipsalis amazonica</i>
12.- <i>Disocactus eichlamii</i>	29.- <i>Pseudorhipsalis himantoclada</i>
13.- <i>Disocactus speciosus subsp. heterodoxus</i>	30.- <i>Kinnachia ramulosa</i>
14.- <i>Disocactus macranthus</i>	31.- <i>Selenicereus atropilosus</i>
15.- <i>Disocactus nelsonii</i>	32.- <i>Selenicereus donkelaarii</i>
16.- <i>Disocactus phyllanthoides</i>	33.- <i>Selenicereus grandiflorus</i>
17.- <i>Disocactus quezaltecus</i>	34.- <i>Selenicereus glaber</i>

17.-Lustre. El brillo que presenta la semilla cuando está seca puede estar influenciado por el micro-relieve que presenta la testa. Se utilizaron los estados de carácter propuestos por Barthlott y Hunt (2000): brillante, semimate y mate.

0=Brillante 1=Semimate 2=Mate

18.-Forma del complejo hilo-micropilar. Se refiere a la forma que adquiere el complejo hilo-micropilar. Puede ser oval, banda curva y cerradura (Barthlott y Hunt, 2000). En algunos casos no aplica este carácter, por ausencia del mismo.

0=Oval 1=Banda curva 2=Cerradura 3=No aplica

19.-Reminiscencia de ariloide. Apéndice seminal muy reducido conformado por aerénquima. Se origina del tejido del funículo más el tegumento externo (Rios-Carrasco, 2017).

0=Ausente 1=Presente

Apéndice 3. Matriz de datos morfológicos.

Especie	Caracteres																		
	1-10									11-19									
<i>Acanthocereus chiapensis</i>	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	2	1	0	1	1	0	0	0
<i>Acanthocereus oaxacensis</i>	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	2	1	0	1	1	0	0	0
<i>Acanthocereus tetragonus</i>	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	2	1	0	1	1	0	0	0
<i>Aporocactus flagelliformis</i>	1	2	1	1	1	1	1	1	0	1	3	1	0	1	0	0	0	0	
<i>Aporocactus martianus</i>	1	2	1	1	1	1	1	1	0	1	3	1	0	1	0	0	0	0	
<i>Disocactus ackermannii</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	1	3	1	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus anguliger</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	0	2	1	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus aurantiacus</i>	1	3	1	0	1	1	0	1	1	0	1	3	1	1	1	0	?	0	0
<i>Disocactus biformis</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	1	3	0	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus crenatus</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	0	2	1	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus eichlamii</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	1	3	0	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus kinnachii</i>	1	3	1	0	1	2	1	1	1	0	1	3	1	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus lepidocarpus</i>	1	3	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	1	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus macranthus</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	1	0	3	0	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus nelsonii</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	1	3	0	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus phyllanthoides</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	1	3	1	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus quezaltecus</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	1	3	0	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus salvadorensis</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	1	0	1	3	0	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus speciosus subsp. bierianus</i>	1	3	1	0	1	2	1	1	1	0	1	3	1	1	1	0	1	0	0
<i>Disocactus speciosus subsp. cinnabarinus</i>	1	3	1	0	1	1	1	1	1	0	1	3	1	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus speciosus subsp. heterodoxus</i>	1	3	1	0	1	2	1	1	1	0	1	3	1	1	1	0	0	0	0
<i>Disocactus speciosus subsp. speciosus</i>	1	2	1	0	1	1	1	1	1	0	1	3	1	1	1	0	1	0	0
<i>Epiphyllum cartagense</i>	1	3	1	0	1	2	0	0	0	1	0	2	1	0	1	1	0	2	1

<i>Epiphyllum chrysocardium</i>	1	3	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	1	0	1	0	?	1	0
<i>Epiphyllum hookeri</i> subsp. <i>hookeri</i>	1	3	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	1	0	1	1	2	2	1
<i>Epiphyllum hookeri</i> subsp. <i>pittieri</i>	1	3	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	1	0	1	1	2	2	1
<i>Epiphyllum phyllanthus</i>	1	3	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	1	0	1	1	2	2	1
<i>Epiphyllum pumilum</i>	1	3	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	1	1	1	0	0	2	1
<i>Epiphyllum thomasianum</i> subsp. <i>costaricense</i>	1	3	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	1	1	1	1	0	2	1
<i>Kimnachia ramulosa</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lemaireocereus hollianus</i>	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
<i>Pereskia lychnidiflora</i>	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	3	0
<i>Pseudorhipsalis amazonica</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	0	1	0	3	0	1	0	0	1	0	0
<i>Pseudorhipsalis himantoclada</i>	1	3	1	0	1	2	0	1	0	1	0	3	0	0	0	0	1	0	0
<i>Selenicereus atropilosus</i>	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	1	0	0	0	0
<i>Selenicereus donkelaarii</i>	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	1	0	1	1	0
<i>Selenicereus glabe</i>	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	1	0	0	0	0
<i>Selenicereus grandiflorus</i>	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	2	1	1	1	0	1	1	0
<i>Selenicereus ocamponis</i>	1	2	0	1	1	1	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	1	1	0
<i>Selenicereus purpusii</i>	1	2	0	1	1	1	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	1	1	0

Apéndice 4. Reconstrucción filogenética obtenida con Máxima Parsimonia (MP) y Máxima Verosimilitud (ML)

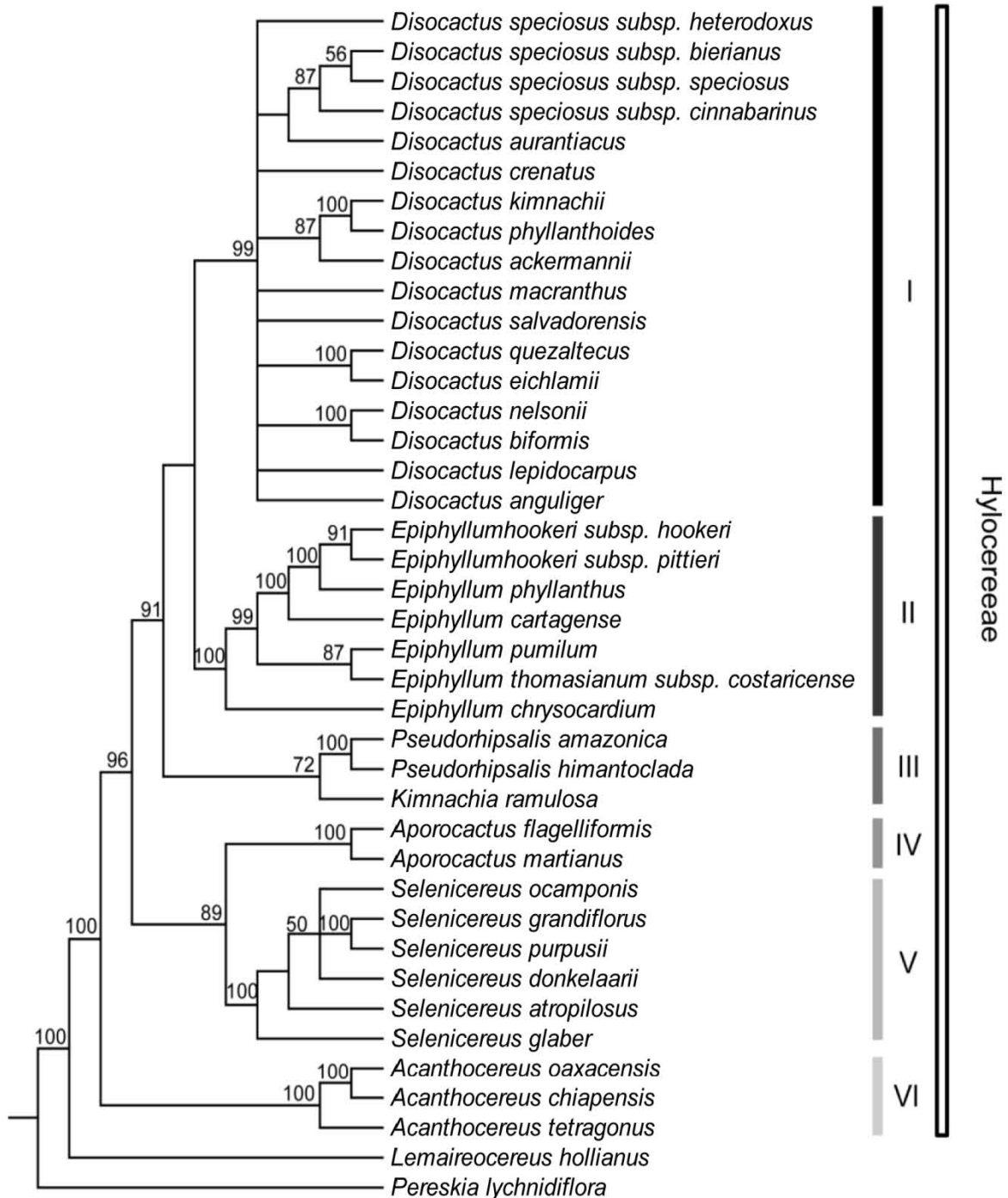


Figura 12. Topología del árbol de Consenso Estricto obtenido mediante Máxima Parsimonia (MP). Los números en las ramas indican los soportes de rama en valores de bootstrap (BS).

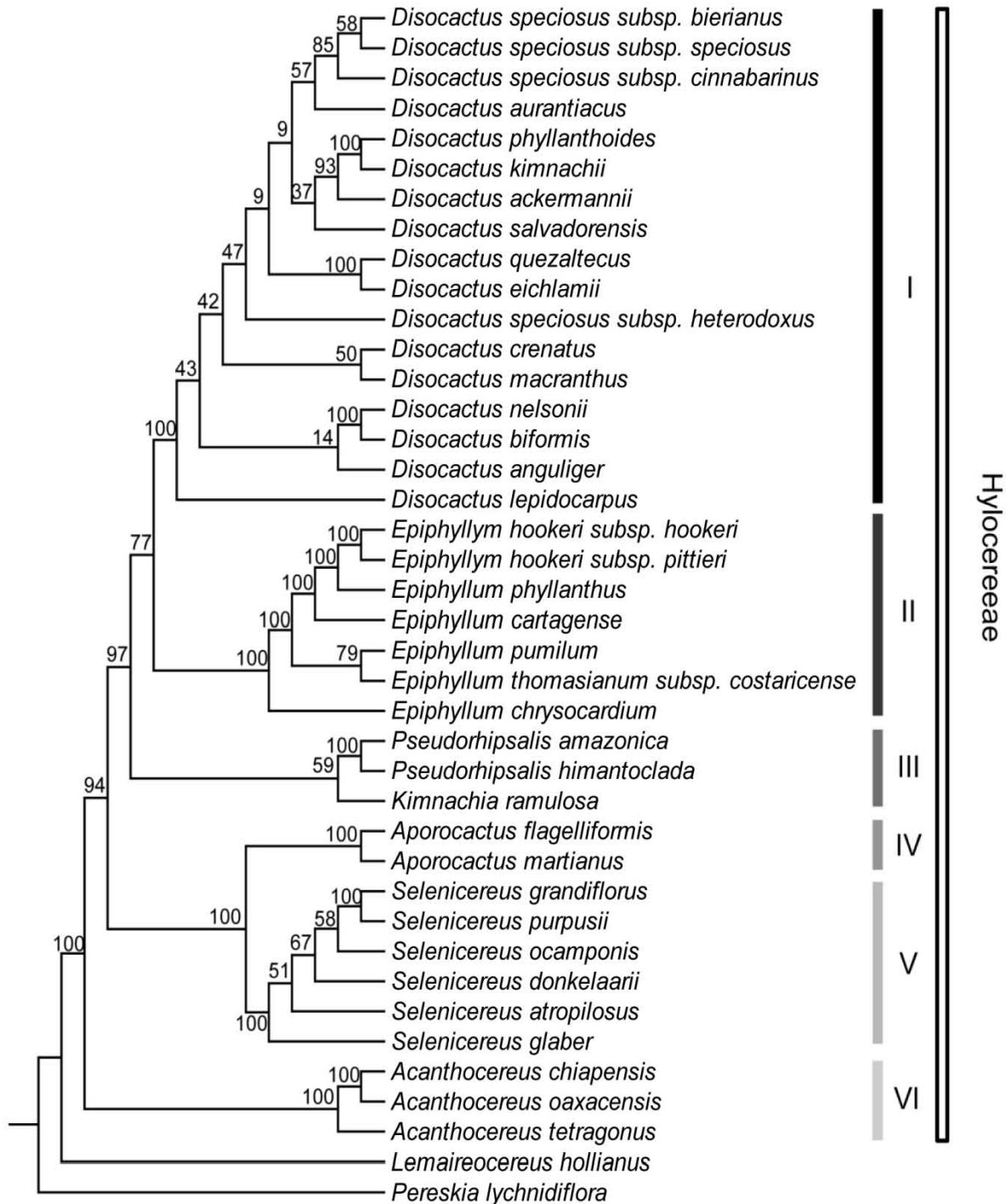


Figura 13. Topología del árbol obtenido mediante Máxima Verosimilitud (ML). Los números en las ramas indican los valores de bootstrap (BS) como soporte de rama.

Conclusiones generales

La reconstrucción filogenética realizada con seis marcadores de ADN de cloroplasto no apoyó la monofilia de *Disocactus* o de los subgéneros reconocidos por Hunt *et al.* (2006). En la presente tesis se establece una nueva delimitación del género al excluir al subgénero *Aporocactus* e incluir a tres especies previamente circunscritas a *Epiphyllum*. Las especies de *Aporocactus* están más cercanamente relacionadas con *Selenicereus* (incl. *Hylocereus*) y *Weberocereus*, aunque con soportes bajos. Por lo tanto, se propone el re-establecimiento del género *Aporocactus*. Por otra parte, se reconocen como géneros hermanos de *Disocactus* a *Epiphyllum* y *Pseudorhipsalis*; sin embargo, la relación que guardan estos tres géneros aún es incierta (capítulo I). Algunos caracteres morfológicos usados para la delimitación de *Disocactus* han surgido más de una vez en Hylocereeae. Por ejemplo, las flores de colores intensos (rojas) y diurnas no son exclusivas de *Disocactus*. Se plantea un posible origen convergente para las flores de colores claros (blanco-amarillo) y nocturnas encontradas en *Disocactus* y *Epiphyllum*. Se propone como posible sinapomorfia para *Disocactus* la presencia de flores con estambres arreglados en dos series (capítulo II).

Los datos morfológicos son un complemento ideal para robustecer y poner a prueba las hipótesis filogenéticas generadas en los análisis realizados con datos moleculares. El análisis combinado utilizando los mismos taxones examinados en el capítulo I, permitió revelar relaciones que no se recuperan cuando se analizan los datos moleculares y morfológicos por separado. Se esclareció la relación de las tres líneas evolutivas del clado Epiphyllinae, integrado por *Disocactus*, *Epiphyllum* y *Pseudorhipsalis*. Los resultados, aunque con soporte bajo (0.69 PP) no apoyan la propuesta de un cuarto género (*Kimnachia*) como proponen Korotkova *et al.* (2017) con base en su análisis realizado con datos

moleculares. Por lo tanto, se requiere de un muestreo más amplio del género *Pseudorhipsalis* para corroborar este resultado. La reconstrucción de estados ancestrales demostró que 2/3 de los caracteres analizados han surgido más de una vez en la tribu. Sin embargo, la presencia de hábito arbustivo y tallos dimórficos son identificados como sinapomorfias de Hylocereeae. Por otra parte, el crecimiento escandente es exclusivo de *Acanthocereus*. La región hilo-micropilar (HM) en forma de cerradura y la presencia de reminiscencia de ariloide se interpretan como sinapomorfias de *Epiphyllum*. Los géneros restantes estarían definidos por una combinación única de homoplasias. Los resultados obtenidos permitieron proponer la hipótesis de que el epifitismo en Hylocereeae derivó de un ancestro arbustivo y escandente. Además se plantea que la forma de crecimiento trepadora se originó a partir de la forma epífita. Las modificaciones morfológicas asociadas con la adquisición del epifitismo son el desarrollo de tallos en forma de filocladios y la pérdida de espinas, mientras que la forma de crecimiento trepadora está relacionada con la capacidad de desarrollar raíces aéreas a lo largo del tallo y la preservación de un tallo con costillas y espinas.

Las cactáceas epífitas representan un porcentaje nada despreciable dentro de una familia, que ha diversificado principalmente en las regiones áridas. Son relevantes desde el punto de vista económico y ornamental. Sin embargo, cuentan con un número limitado de estudios enfocados en resolver las delimitaciones de los géneros y sus relaciones filogenéticas. La mayoría de ellos se han realizado para las epífitas sudamericanas de la tribu Rhipsalideae, mientras que en Hylocereeae se carecía de ellos. En el presente trabajo de investigación se realizó el primer análisis con datos moleculares para un género en particular, cuya delimitación era dudosa. Además, incluye la primera aproximación de las

relaciones filogenéticas y la evolución de caracteres dentro de la tribu Hylocereeae bajo un contexto de evidencia total.

Los ajustes taxonómicos propuestos en esta tesis implican los siguientes cambios nomenclaturales y en la delimitación a nivel de género:

Género *Aporocactus* Lem. Tipo: *Cactus flagelliformis* L., Sp. Pl. 1: 467. 1753. Dos especies aceptadas:

A. flagelliformis (L.) Lem., Ill. Hort. vii: Misc. 68. 1860.

A. martianus (Zucc.) Britton & Rose, Cactaceae 2: 220-221. 1920.

Género *Disocactus* Lindl., Edwards's Bot. Reg. 29: Misc. 51. 1843. Tipo: *Disocactus biformis* (Lindl.) Lindl., Edwards's Bot. Reg. 31: t. 9. 1845. 15 especies con 11 subespecies aceptadas (Cruz et al. 2016, páginas: 156-159):

D. ackermannii (Haw.) Ralf Bauer, Cactaceae Syst. Init. 17: 15. 2003.

D. ackermannii subsp. *ackermannii*

D. ackermannii subsp. *conzattianus* (T. MacDoug.) Ralf Bauer, Cactaceae Syst. Init. 17: 15. 2003.

D. anguliger (Lem.) M. Á. Cruz & S. Arias, Willdenowia 46: 1. 2016.

D. aurantiacus (Kimmach) Barthlott, Bradleya 9: 87. 1991

D. biformis (Lindl.) Lindl., Edwards's Bot. Reg. 31: t. 9. 1845.

D. crenatus (Lindl.) M. Á. Cruz & S. Arias, Willdenowia 46: 1. 2016.

D. crenatus subsp. *crenatus*

D. crenatus subsp. *kimmachii* (Bravo ex Kimmach) M. Á. Cruz & S. Arias, Willdenowia 46: 1. 2016.

D. eichlamii (Weing.) Britton & Rose, Contr. U. S. Natl. Herb. 16: 259. 1913.

D. kimmachii G. D. Rowley, Brit. Cact. Succ. J. 5: 84. 1987.

D. lepidorcarpus (F. A. C. Weber) M. Á. Cruz & S. Arias, Willdenowia 46: 1. 2016.

D. lodei Véliz, L. Velásquez & R. Puente, Int. Cact. Advent. 104: 2. 2014.

D. macdougallii (Alexander) Barthlott, Bradleya 9: 88. 1991.

D. macranthus (Alexander) Kimmach & Hutchinson, Cact. Succ. J. (Los Angeles) 29: 78. 1957.

D. nelsonii (Britton & Rose) Linding., Beih. Bot. Centralbl. 61: 383. 1942.

D. nelsonii subsp. *hondurensis* (Kimmach) Dowel, Sukkulenty 4(1-2): 41. 2002.

D. nelsonii subsp. *nelsonii*

D. phyllanthoides (DC.) Barthlott, Bradleya 9: 88. 1991.

D. quezaltecus (Standl. & Steyerl.) Kimmach, Cact. Succ. J. (Los Angeles) 31: 137. 1959.

D. speciosus (Cav.) Barthlott, Bradleya 9: 88. 1991.

D. speciosus subsp. *bierianus* Ralf Bauer en EPIG 60: 31. 2008.

D. speciosus subsp. *blomianus* (Kimmach) Ralf Bauer, Cactaceae Syst. Init. 17: 15. 2003.

D. speciosus subsp. *cinnabarinus* (Eichlam ex Weing.) Ralf Bauer, *Cactaceae Syst. Init.* 17:
15. 2003.

D. speciosus subsp. *heterodoxus* (Standl. & Steyerm.) M. Á. Cruz & S. Arias, *Willdenowia*
46: 1. 2016.

D. speciosus subsp. *speciosus*