



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA DEL GÉNERO *YUCCA*

(AGAVOIDEAE, ASPARAGACEAE)

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

MARÍA MAGDALENA AYALA HERNÁNDEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ELOY SOLANO CAMACHO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

COMITÉ TUTOR: DRA. MARIE-STEPHANIE ELEONORE ANDREE

SAMAIN

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.

DR. ABISAÍ JOSUÉ GARCÍA MENDOZA

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO

SEPTIEMBRE 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA DE *YUCCA*

(AGAVOIDEAE, ASPARAGACEAE)

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

MARÍA MAGDALENA AYALA HERNÁNDEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ELOY SOLANO CAMACHO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

COMITÉ TUTOR: DRA. MARIE-STEPHANIE ELEONORE ANDREE

SAMAIN

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.

DR. ABISAÍ JOSUÉ GARCÍA MENDOZA

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO

JUNIO 2023

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
OFICIO: CGEP/CPCB/FESZ/0495/2023
ASUNTO: Oficio de Jurado

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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **27 de marzo de 2023** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la estudiante **AYALA HERNÁNDEZ MARÍA MAGDALENA** con número de cuenta **97226233** con la tesis titulada "**Sistemática filogenética del género *Yucca* (Agavoideae, Asparagaceae)**", realizada bajo la dirección del **DR. ELOY SOLANO CAMACHO**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO
Vocal: DR. DAVID NAHÚM ESPINOSA ORGANISTA
Vocal: DR. ANTONIO ALFREDO BUENO HERNÁNDEZ
Vocal: DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO
Secretario: DRA. MARIE-STEPHANIE ELEONORE ANDREE SAMAIN

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 13 de junio de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno
AGNS/CEC/EARR/cec



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (PCB, UNAM) por la oportunidad de continuar creciendo académicamente y contribuir en mi formación como investigadora.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) que apoyo mis estudios de posgrado mediante la beca número 210602.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, DGAPA, UNAM, Convenio IN214318 cuyo financiamiento me permitió investigar la Sistemática del género *Yucca*.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (FES Zaragoza) porque ha sido mi casa por más de 20 años. en ella me he formado profesionalmente y como ser humano.

Al Departamento de Investigación, la Colección Viva y el Herbario (DES) del Desert Botanical Garden (DBG), Phoenix, Arizona, por las facilidades para realizar los análisis moleculares, coleccionar material vivo y consultar su colección herborizada mediante las estancias de investigación en 2018 y 2019.

Al Dr. Scott Bingham del Departamento de Biología Molecular de la Universidad Estatal de Arizona (ASU), quien realizó la secuenciación del ADN utilizado en este estudio.

A los Herbarios HNT (The Huntington Library, Art Museum, and Botanical Gardens), RSA (California Botanic Garden) y Mercer Botanic Garden (MERCIA), que amablemente proporcionaron material de sus colecciones vivas para los estudios moleculares.

A mi Comité Tutor el Dr. Eloy Solano, Dra. Marie-Stephanie Samain y Dr. Abisaí García Mendoza por su tiempo, conocimiento, apoyo y motivación para desarrollar y concluir este proyecto.

A los miembros del jurado: Dra. Teresa Terrazas, Dra. Sofía Solórzano, Dra. Marie-Stephanie Samain, Dr. Alfredo Bueno y Dr. David Espinosa por aceptar participar en este proyecto y dedicar su valioso tiempo para revisar la tesis, sus observaciones me permitieron mejorarla.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A mi maestro y amigo Dr. Eloy Solano por su legado de trabajo, disciplina y pasión por las plantas. Tantas experiencias compartidas, el trabajo en el herbario, las salidas al campo, los seminarios, las clases, los congresos, el relaxo, etc. Sus enseñanzas me inspiran a superarme cada día. Agradezco haber sido su alumna y a donde esté le envío mi admiración y cariño.

A la Dra. Marie-Stephanie Samain le expreso mi agradecimiento más sincero por codirigir esta investigación de una manera tan profesional y paciente. Su guía académica y personal fueron determinantes para concluir este trabajo. Gracias por todo el tiempo dedicado a esta investigación, por las observaciones en los tutorales y a cada una de las partes que conforman la tesis. Conocerla me cambió la vida porque aprendí mucho.

Al Dr. Abisaí J. García Mendoza cuyo acompañamiento desde la maestría ha permeado positivamente en mi desarrollo profesional. Su conocimiento y amplia experiencia de la Flora de México, particularmente de Agavoideae, enriquecieron sustancialmente esta tesis.

Al jurado de la candidatura: Dra. Teresa Terrazas, Dra. Helga Ochoterena, Dra. Patricia Dávila, Dra. Marie-Stephanie Samain y Dr. Leonardo Alvarado, por darme la oportunidad de corregir y realizar una versión más favorable de este estudio.

A la Dra. Shannon D. Fehlberg quien me recibió amablemente en su laboratorio y me enseñó a realizar los análisis moleculares, desde la extracción de ADN hasta la interpretación biológica. Por apoyarme económicamente durante la segunda estancia en el DBG, y por cada vez que se reunió conmigo para resolver mis dudas. Además de ser una gran investigadora, es una maestra extraordinaria. Deseo que más adelante podamos realizar otros estudios.

A la Dra. Karen Clary por compartir su conocimiento sobre *Yucca*. Sus estudios sobre el género son una referencia obligada y valiosa que encaminaron este trabajo. Gracias por su disposición y amabilidad para intercambiar ideas. Nuestras pláticas me dieron otra visión de la sistemática de las yucas.

Al Dr. Ricardo García Sandoval por la oportunidad de trabajar juntos y mostrarme herramientas para conocer parte de la historia evolutiva de *Yucca*. Fueron muchas reuniones, pero valieron cada minuto y se refleja en los resultados. ¡Muchas gracias Doctor!

Al M. en C. Raúl Puente responsable de la colección viva del DBG quien hizo posible que realizara las estancias de investigación, obtuviera material biológico del DBG y otras colecciones de Estados Unidos; por llevarme a coleccionar yucas fuera de México e involucrarme en las actividades del Jardín. En especial te agradezco por compartir conmigo tu hogar y conocer a tu familia. Hago extensiva mi gratitud a Gretchen, Darío y Adriana.

Al maestro Ramiro Ríos por hacer equipo conmigo y acompañarme durante las salidas al campo. Con su experiencia y tenacidad se obtuvo el material de las yucas distribuidas en México, e incluso describir una especie nueva. ¡Muchas gracias maestro!

Al Dr. Andrew Sallywon por las facilidades para consultar el Herbario DES y apoyarme en los análisis moleculares. Mi admiración por ser un científico y humano maravilloso.

A la Dra. Wendy Hodgson por su dedicación de muchos años al estudio de Agavoideae, y promover mi curiosidad sobre las yucas y apoyarme con tanto cariño.

Al Dr. Gilberto Alemán Sancheschúlz que me motivó para conocer las plantas en otro nivel y apoyarme con los estudios anatómicos. Tenemos en común el gusto por aprender y quiero saber más gracias por creer en mí y darme ánimos.

A mi amigo Miguel Rivera por ayudarme en el análisis filogenético. Muchas gracias por estar para mí en los buenos y no tan buenos momentos, pero sobre todo por tu amistad.

A María de la Luz López Martínez por apoyarme y compartir conmigo su amistad y cariño.

Al Dr. Christopher Smith por intercambiar ideas sobre las yucas e incluirme en el grupo de estudio sobre Agavoideae.

A la Dra. Kimberly McCue jefa departamento de Investigación del DBG por las facilidades para realizar las estancias de investigación.

A mis amigos del DBG Jael, Annia, Verónica, Rosa, Jaime, Beth, Joni, Dan, Steven, Sarah, Dona y Caty, su afecto y apoyo hicieron más llevadera mi estadía. ¡Thanks so much guys!

A Héctor Serrano, Kevin Galicia, Itzel Juárez, Andrea Verde y Ana Soriano por trabajar conmigo en el estudio anatómico.

A Ana Gaby por acompañarme en mis horas más oscuras, alentarme y tener para mí las palabras precisas que me ayudaron a avanzar.

A mi primera familia, especialmente a mis papás que amo tantísimo, valoro todo lo que hicieron para darme educación. Su amor me mueve a dar lo mejor de mí.

A mi nueva familia, gracias por ir haciendo el camino juntos, darme tu amor y priorizar la mayoría de las veces el nosotros antes del yo. Gracias por entender mi ausencia, ayudarme día a día a ser más fuerte y a enseñarme que en esta familia no nos rendimos.

DEDICATORIA

A mi madre

El amor es un vínculo que va más allá del plano físico y de alguna manera del temporal también.

No está tu cuerpo ni tu voz, ya no puedo abrazarte ni salir contigo de viaje, pero sé que tú estás

conmigo, porque tu amor forma parte de mí, ese no se fue cuando te mudaste a otra dimensión,

se quedó en todo lo que soy. A diario puedo platicar contigo y si cierro los ojos incluso te veo. Te

extraño mucho y eso no cambiará, pero me consuela saber que hago mi mejor esfuerzo en la vida

como tú lo hiciste, es mi manera de honrarte. Gracias por darme tanto.

Índice

Resumen	Pág. 1
Abstract	Pág. 2
Introducción general	Pág. 4
Literatura citada	Pág. 12
Capítulo I. Phylogenetic relationships, times of divergence and morphological evolution of <i>Yucca</i> L. (Agavoideae/Asparagaceae)	Pág. 21
Capítulo II. Anatomía comparativa y su utilidad taxonómica en complejos de <i>Yucca</i>	Pág. 80
Capítulo III. <i>Yucca muscipula</i> (Asparagaceae, Agavoideae), a new species from central Mexico.....	Pág. 121
Discusión general	Pág. 131
Conclusiones generales	Pág. 138
Literatura citada	Pág. 140

Resumen

El género *Yucca* contiene 52 especies endémicas de América, son elementos florísticos dominantes principalmente de las zonas áridas y semiáridas, y cuentan con un alto porcentaje de endemismo en México y el sur de Estados Unidos. Estas plantas son fáciles de reconocer morfológicamente por sus hojas fibrosas con una espina terminal, flores hipóginas, blanquecinas organizadas en racimos o panículas y los frutos abayados o capsulares.

Desde 1871 la clasificación del género se basó en el tipo de fruto con base en el cual se nombraron secciones; mientras que, a partir de algunos caracteres de las hojas y las flores, fue dividido en series. Los estudios actuales sobre las relaciones filogenéticas entre sus especies carecen de la resolución para apoyar su clasificación infragenérica o proponer una nueva, y pocos han abordado la evolución de su morfología y la anatomía de sus órganos, en particular de la hoja.

Los objetivos de este estudio fueron: 1) someter a prueba la monofilia de *Yucca* incluyendo especies que no habían sido incluidas en los estudios filogenéticos previos, 2) analizar las relaciones filogenéticas de *Yucca* y géneros cercanamente emparentados a partir de tres regiones del cloroplasto y una nuclear, 3) investigar si las secciones y las series corresponden a grupos naturales, 4) evaluar la evolución de los caracteres morfológicos utilizados en su clasificación y 5) examinar la anatomía foliar de algunas especies cuya delimitación es controvertida y determinar si los caracteres anatómicos son potencialmente diagnósticos.

Los resultados de la presente investigación están organizados en tres capítulos. El capítulo 1 consta del artículo “Phylogenetic relationships, times of divergence and

morphological evolution of *Yucca* L. (Agavoideae/Asparagaceae)”. Los resultados apoyan la división de *Yucca* en secciones, no así en series. El análisis de la evolución morfológica indica que el fruto seco es plesiomórfico. En el segundo se analiza comparativamente la anatomía de las hojas para determinar si algunos caracteres pueden contribuir en la delimitación taxonómica. La anatomía foliar es homogénea en el nivel genérico que permite distinguirla de otros géneros con los que está emparentado. Entre especies se registraron diferencias significativas en la mayoría de los caracteres examinados. El capítulo 3 consiste en el artículo de requisito donde se describe *Yucca muscipula* una especie nueva con fruto carnoso, endémica de la Barranca de Metztitlán, México.

Abstract

The genus *Yucca* contains 52 endemic species of America, they are dominant floristic elements mainly in arid and semi-arid zones, and have a high percentage of endemism in Mexico and the southern United States. These plants are easy to recognize morphologically by their fibrous leaves with a terminal spine, whitish hypogynous flowers organized in clusters or panicles, and a berry or capsule fruits.

Since 1871 the classification of the genus was based on the type of fruit based on which sections were named; while, from some characters of the leaves and flowers, it was divided into series. Current studies on the phylogenetic relationships between its species lack sufficient resolution to support its infrageneric classification or propose a new one, and few have addressed the evolution of its morphology and the anatomy of its organs, particularly the leaf.

Based on the above, the objectives of this study were: 1) to test the monophyly of *Yucca* including species that had not been included in previous phylogenetic studies, 2) analyze the phylogenetic relationships of *Yucca* and closely related genera from three chloroplast regions and one nuclear region, 3) investigate whether the sections and series correspond to natural groups, 4) evaluate the evolution of the morphological characters used in its classification, and 5) examine the foliar anatomy of some species whose delimitation is controversial, and determine if the anatomical characters have taxonomic utility.

The results of this study are organized into three chapters. Chapter 1 consists of the article “Phylogenetic relationships, times of divergence and morphological evolution of *Yucca* L. (Agavoideae/Asparagaceae)”. The results support the division of *Yucca* into sections, but not into series. The analysis of the morphological evolution indicates that the dry fruit is plesiomorphic. In the second chapter, the anatomy of the leaves is comparatively analyzed to determine if some characters can contribute to the taxonomic delimitation. The foliar anatomy is homogeneous at the generic level, which allows it to be distinguished from other genera with which it is related. Among species, significant differences were recorded in most of the characters examined. Chapter 3 consists of the requisite article where *Yucca muscipula* is described, a new species with fleshy fruit, endemic to the Barranca de Metztitlán, Mexico.

Introducción general

Yucca es un género americano que se distribuye desde el sur de Canadá hasta Guatemala (Engelmann, 1871; Speirs, 1979). Las yucas son elementos florísticos dominantes de los matorrales xerófilos, los izotales y con menos frecuencia también habitan bosques templados y tropicales (McKelvey, 1938; Matuda y Piña, 1980; Rzedowski, 2006). La mayor diversidad y endemismos se localizan en las zonas áridas y semiáridas del sur de los Estados Unidos de América y el norte de México (García-Mendoza y Galván, 1995, Clary 1997). En el género se han registrado de 35 a 52 especies (Espejo y López-Ferrari, Plant list, 2022), de las cuales 30 se establecen en México y 28 en los Estados Unidos de América (García-Mendoza, 2011; Hess y Robins, 1996); nueve están en ambos países, mientras que, a nivel estatal, Texas y Coahuila son las entidades de cada nación donde se registran más especies. Asimismo, varias han sido introducidas en todo el mundo, y en algunas regiones como Sudáfrica e India han sido consideradas como invasoras (Smith *et al.*, 2012).

Durante casi dos siglos las yucas fueron colocadas por diferentes taxónomos en Liliaceae (Endlicher, 1836; Bentham y Hooker, 1883; Bessey, 1915) debido principalmente a sus flores hipóginas. Posteriormente, se incluyeron en Agavaceae por el hábito de crecimiento, la ausencia de bulbos, la posición del ovario e inflorescencia diferente a una umbela (Hutchinson, 1934, 1959; Cronquist, 1981; Dahlgren *et al.*, 1985; Takhtajan, 1997). En clasificaciones más recientes basadas en evidencia morfológica y molecular, *Yucca* se ubica en la subfamilia Agavoideae, que a su vez forma parte de la familia Asparagaceae (APG III, 2008; Chase *et al.*, 2009; APG IV, 2016) en el clado denominado ABK (Agavoideae Bimodal Karyotype), cuyos taxones poseen 25 cromosomas cortos y cinco

largos, y cinco géneros más tienen variantes de cromosomas largos y cortos, pero no en número de 30 (Bogler, 2006; McKain, 2016).

Las yucas son plantas perennes, en su mayoría suculentas que varían en su morfología, pueden ser caulescentes, semiacuales o acaules. El tallo es simple o ramificado, con hojas agrupadas en el ápice, las cuales varían en la textura, forma, margen y tamaño, van desde coriáceas, crasas o suaves, lineares a linear-lanceoladas, margen denticulado o entero. En este último caso pueden desprenderse filamentos de grosor y color variable, el ápice termina en una espina. Sus flores son campanuladas a globosas, rara vez las bases de los tépalos forman un tubo, hermafroditas e hipóginas, dispuestas en racimos o panículas, constan de seis tépalos carnosos, por lo general blanquecinos, rara vez purpúreos, con frecuencia éstos presentan tintes rojizos, verdosos o purpúreos. Tienen seis estambres claviformes a menudo con papilas, cuya porción apical está ensanchada, anteras sagitadas e introrsas. Los frutos pueden ser carnosos abayados o cápsulas indehiscentes o septicidas, cuyas semillas son negras, lisas o rugosas (Hess y Robins, 1996; García-Mendoza, 2011), con endospermo entero o ruminado (Engelmann, 1871).

El género tiene importancia económica, varias de sus especies son utilizadas como ornamentales, cercas vivas, fuente de fibras con las que se realizan diferentes objetos, sus raíces se emplean entre otros usos para elaborar jabones y medicamentos, además sus flores y frutos son comestibles (Sheldon, 1980; Patel, 2012; Bartlett, 2019), especialmente en gran parte del Altiplano Mexicano donde las flores son conocidas como chochas (Matuda y Piña, 1980; Mora-Olivo *et al.*, 2009). De otras se ha evaluado su acción como bactericida, fungicida (Allende, 2007), antioxidante y fotoprotectora (García, 2010).

Estas plantas han sido ampliamente estudiadas debido a la coevolución que tienen con sus polinizadores, varios estudios han abordado esta relación (Baker, 1986; Powell, 1992; Pellmyr y Hutt, 1994; Pellmyr, 1996; Althof *et al.*, 2006; 2012; 2022; Pellmyr *et al.*, 2007). En otros se han esclarecido los tiempos de divergencia de las plantas y los insectos (Smith *et al.*, 2008), su fenología, distribución, ecología o genética (Matuda y Piña, 1980; Brenskelle *et al.*, 2021; Luna, 2021; Caballero, 2022).

En relación con la sistemática de las yucas Clary y Simpson (1995) y Clary (1997) utilizaron evidencia morfológica y molecular, para evaluar las relaciones entre las especies de *Yucca*; mientras que, con el uso de AFLP's (Amplified Fragment Length Polymorphism), Pellmyr (2007) recuperó a todas las secciones y a la serie *Rupicola* como monofiléticas. Smith *et al.* (2012) también utilizaron seis regiones correspondientes al ADN del cloroplasto y en sus resultados ni las secciones ni las series son monofiléticas.

Estudios taxonómicos en *Yucca* L.

De acuerdo con Engelmann (1873), en el siglo XVII algunas especies de *Yucca* fueron introducidas en Europa como plantas ornamentales, donde varias de ellas integraron parte de la flora de los jardines botánicos y fueron ilustradas por naturalistas, entre ellos Dillenius (1732), quien realizó ilustraciones de *Y. draconis* y *Y. arborea*. Posteriormente, Linnaeus (1753) describió y colocó al género en la clase Hexandria, orden Monogynia, en él incluyó: *Y. aloifolia*, *Y. draconis*, *Y. gloriosa* y *Y. filamentosa*. Desde entonces, su clasificación ha cambiado constantemente. De Jussieu (1789), con base en el número de cotiledones y la posición de la corola con respecto al ovario, colocó a *Yucca* en la clase Monocotyledones Stamina Perygina, Ordo Lilia; no indicó cuántas especies conformaban al género.

Engelmann (1871) dividió al género en los grupos *Euyucca* y *Hesperoyucca* con base en características de los estambres y los carpelos. En *Euyucca* distinguió tres secciones de acuerdo con características del fruto y la semilla:

Sarcocarpa: frutos carnosos e indehiscentes, péndulos, semillas rugosas y ruminadas.

Clistocarpa: frutos secos e indehiscentes, esponjosos, semillas lisas con albumen entero.

Chaenocarpa: frutos secos con dehiscencia septicida, erectos, trivalvares hacia el ápice y semillas muy delgadas con el albumen entero.

Engelmann (1873) modificó los nombres de las secciones cambiando la terminación *-carpa* por *-yucca* para quedar *Clistoyucca*, *Chaenoyucca* y *Sarcoyucca*. Posteriormente, Baker (1880; 1892) estudió las tribus Aloineae y Yuccoideae (Liliaceae), a las cuales distinguió por la fusión de los segmentos del perianto y la succulencia de las hojas. En Yuccoideae incluyó plantas con perianto polifílico y hojas rígidas no carnosas; además de *Yucca* colocó a *Beaucarnea*, *Dasylyrion*, *Herreria* y *Hesperaloe*. Asimismo, reconoció 21 especies de *Yucca* que organizó en dos subgéneros de acuerdo con la ornamentación de los filamentos y el tipo de estilo y estigma: *Euyucca* (filamentos papilosos, estilo craso, estigma emarginado) y *Hesperoyucca* (filamentos glabros, estilo delgado, estigma capitado). En *Euyucca* colocó tres grupos basándose en el margen de las hojas (*Serrulatae*=serrulado, *Integrifoliae*=entero y *Filiferae*=desprendiéndose en filamentos), y en el tipo de fruto (*Sarcoyucca*= indehiscente abayado, *Clistoyucca*= indehiscente seco, *Chaenoyucca*= cápsula septicida). Posteriormente, consideró que *Hesperoyucca* debía ser reconocido como un género separado de *Yucca*.

Endlicher (1836) colocó a *Yucca* en Aloineae, Liliaceae cuyos miembros poseen fruto capsular o abayado, y flores con el perigonio tubuloso y seis lobado hacia el ápice, estambres hipóginos y ovario trilocular. Posteriormente, Bentham y Hooker (1883) dividieron Liliaceae en 20 tribus, dentro de la tribu *Dracaenae* circunscribieron plantas con tallos leñosos, hojas rara vez carnosas, perianto de segmentos generalmente libres (polifílico), anteras no foveoladas, frutos capsulares o carnosos e inflorescencias paniculadas. Además de *Yucca*, incluyeron en la tribu a *Dasyilirion*, *Hesperaloe*, *Hesperocallis*, *Dracaena*, *Cordyline*, *Nolina*, *Astelia* y *Milligania*. En tanto que Engler (1888) incluyó a Yuceae en Dracaenoideae, donde ubicó dos géneros: *Yucca* y *Hesperalöe*. A *Yucca* lo dividió en dos subgéneros: *Euyucca* y *Hesperoyucca*. En el primer subgénero conservó las tres secciones de Engelmann (1873): *Clistoyucca*, *Chaenoyucca* y *Sarcoyucca*.

Trelease (1902) estudió Yuceae *sensu* Engler (1888), destacó que las plantas de esta tribu tienen segmentos del perianto petaloides, ovario trilocular con septos dorsales falsos, óvulos en dos hileras por cada lóculo y un embrión subterete. Distinguió a *Hesperalöe* de los otros miembros de Yuceae por la forma, el tamaño y el color de sus flores, así como la base de las anteras. Con respecto a *Yucca*, además de las secciones de Engelmann (1873), propuso *Heteroyucca*, a esta sección la diferenció de las otras por presentar fruto indehiscente con semillas delgadas y endospermo no ruminado; asimismo incorporó un género nuevo al que denominó *Samuela*, en el cual describió dos especies *S. carnerosana* y *S. faxoniana*, en ambas los segmentos del perianto forman un tubo conspicuo, y los filamentos de los estambres se unen en ese tubo. Además, describió nueve especies nuevas de *Yucca*.

McKelvey (1938, 1947) dividió a *Yucca* en cuatro secciones retomando el uso de -*carpa* en lugar de -*yucca* para tres de éstas: *Sarcocarpa*, *Chaenocarpa*, *Clistocarpa*; y

circunscribió nuevamente a *Hesperoyucca* en *Yucca*. A su vez, organizó a las secciones en diez series, seis de ellas para *Chaenocarpa*: *Rupicolae* (4 especies), *Elatae* (7), *Arkansanae* (1), *Constrictae* (1), *Harrimaniae* (1), *Glaucæ* (2); y cuatro para *Sarcocarpa*: *Faxonianae* (2), *Baccatae* (4) y *Treculeanae* (4). En *Clistocarpa* sólo ubicó a *Y. brevifolia* y no definió series para esta sección. La autora también describió 11 especies nuevas, tres variedades y una forma. Además, colocó a las dos especies de *Samuela* propuestas por Trelease (1902) en *Sarcocarpa* dentro de la serie *Faxonianae*.

Por su parte, Weber (1953) siguió la clasificación seccional de McKelvey, pero no reconoció sus series, ni consideró válidas todas las especies propuestas por la autora, pues sólo admitió 11 especies dentro del género, señalando que muchas de estas se trataban de híbridos. Reveal (1977) abordó cinco de las especies descritas por McKelvey (1938, 1947) como variedades de taxones establecidos, indicó que *Yucca* es un género complejo taxonómicamente.

Para México, Matuda y Piña (1980) estudiaron a las yucas según la propuesta de McKelvey (1938, 1947) tanto en las series como en las secciones, e incluyeron especies descritas posteriormente al tratamiento de la autora. Además, describieron a *Yucca coahuilensis* como una especie nueva. En años subsecuentes a su estudio, en México se publicaron también *Y. queretaroensis* (Piña, 1989), *Y. linearifolia* (Clary, 1995), *Y. capensis* (Lenz, 1998), *Y. mixteca* (García-Mendoza, 1998), y *Y. pinicola* (Zamudio, 2020). Asimismo, para la Flora de Norte América, Hess y Robins (1996) reconocieron 28 especies, no emplean la clasificación seccional para el género, y precisan que la identificación de las especies es complicada.

En estudios basados en evidencia morfológica y molecular Clary (1997) empleó 45 taxones de *Yucca* de acuerdo con la clasificación de McKelvey, para analizar la filogenia y biogeografía del género; sin embargo, no realizó un tratamiento taxonómico. En Estados Unidos de América también se han descrito especies nuevas como *Y. cernua* (Keith, 2003) y *Y. feeanoukiae* (Hochstätter, 2013), esta última no está considerada en Flora de Norte América en línea.

Dada la importancia florística y la discrepancia que hay en relación con la naturalidad de las secciones y las series dentro de *Yucca* en investigaciones previas, en este estudio se incrementó el muestreo de especies para someter a prueba la monofilia del género, evaluar sus relaciones infragenéricas y conocer la evolución morfológica de los caracteres más utilizados en su clasificación. También se examinó la anatomía foliar para determinar si los caracteres de ese tipo son útiles en la delimitación taxonómica. Las preguntas que se intentaron contestar en el presente trabajo son: ¿cómo se relacionan las especies de *Yucca* al incluir especies que no habían sido incluidas en estudios filogenéticos previos a este estudio?, ¿los caracteres morfológicos utilizados en la clasificación tienen correspondencia con la hipótesis de filogenia y cómo éstos han cambiado en la historia evolutiva del género? y ¿los caracteres anatómicos foliares serán informativos para utilizarlos en la delimitación de especies? Para responderlas se realizaron dos análisis filogenéticos mediante inferencia bayesiana y máxima verosimilitud utilizando las regiones *rps16exF-rps16exR*, *trnH-psbA* y *rpl32-trnL* del cloroplasto e ITS 18S y 26S del núcleo. A la luz de la hipótesis de filogenia que se obtuvo en este trabajo mediante inferencia bayesiana, se evaluaron características morfológicas utilizadas para nombrar secciones y series como caulescencia, margen de la hoja, tipo de fruto y dehiscencia del mismo, y tipo de inflorescencia. Por último, también se

examinó la anatomía foliar para determinar si algunos de estos caracteres pueden ayudar en el reconocimiento de especies.

Los resultados de este estudio están organizados como sigue a continuación:

Capítulo I. Phylogenetic relationships, times of divergence and morphological evolution of *Yucca* L. (Agavoideae/Asparagaceae). Este capítulo consta de un artículo que será enviado a *American Journal of Botany*, incluye los objetivos 1 a 4. Los resultados obtenidos del análisis filogenético a partir de la región nuclear tuvieron una mejor resolución que los basados en las regiones del cloroplasto, y muestran que *Yucca* es un grupo monofilético conformado por dos clados llamados aquí *Rupicola* y *Aloifolia*. *Rupicola* incluye especies con fruto seco y *Aloifolia* contiene aquellas con el fruto carnosos, estos resultados apoyan la división del género en secciones. Las series no se recuperaron como monofiléticas. En el grupo externo *Hesperoyucca* está más relacionado con *Hesperaloe* que con *Yucca*, y *Agave* es el género hermano de *Beschorneria*.

La evolución morfológica indica que el fruto seco se originó al menos dos veces en *Yucca*, y que las yucas de divergencia temprana eran plantas caulescentes, con hojas principalmente de margen entero, frutos secos e inflorescencias racemosas, características similares al fósil registrado para el género. Las edades del grupo tallo y corona son de 14.34 y 7.45 millones de años, respectivamente. La mayor diversificación del género ocurrió en el Plioceno cuando los climas cambiaron a más secos y fríos, y la Faja Volcánica Transmexicana presentó una actividad más intensa.

Capítulo II. Anatomía comparativa y su utilidad taxonómica en complejos de *Yucca*. En este capítulo se analizaron algunos caracteres de la anatomía foliar en especies con

taxonomía controvertida. Los resultados muestran que, si bien los caracteres anatómicos son homogéneos para el género, si hay características que permiten reconocer a las especies de los complejos analizados. El manuscrito será enviado a la revista *Botanical Sciences*.

Capítulo III. *Yucca muscipula* (Asparagaceae, Agavoideae), a new species from central Mexico. En este artículo que ya está publicado se describe una especie nueva, con fruto carnoso endémica de México que se distingue de otras yucas por sus tallos generalmente no ramificados, hojas glaucas y papilosas en el envés, surcos de los carpelos poco profundos, filamentos con papilas en toda la superficie y frutos hasta de 11.7 cm de largo. No fue posible incluir a esta especie en el análisis filogenético, no obstante, por el fruto carnoso formaría parte del clado *Aloifolia*.

Literatura citada

Allende, S. L. (2007). Actividad antibacteriana y antifúngica de la corteza de *Yucca periculosa* Baker (Izote), de la localidad de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

Althoff, D. M., Segraves, K. A., Leebens-Mack, J. & Pellmyr, O. (2006). Patterns of speciation in the *Yucca* moths: Parallel species radiations within the *Tegeticula yuccasella* species complex. *Systematic Biology*, 55, 398-410.

Althoff, D. M., Segraves, K. A., Smith, C. I., Leebens-Mack, J. & Pellmyr, O. (2012). Geographic isolation trumps coevolution as a driver of *Yucca* and *Yucca* moth diversification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(3), 898-906.

- Althoff, D. M. & Segraves, K. A. (2022). Evolution of antagonistic and mutualistic traits in the *Yucca-Yucca* moth obligate pollination mutualism. *Journal of Evolutionary Biology*, 35, 100-108.
- APG III. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161(2), 105-121.
- APG IV. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181, 1-20.
- Baker, H. G. (1986). *Yuccas* and *Yucca* Moths-A Historical Commentary. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 73(3), 556-564.
- Baker, J. G. (1880). A Synopsis of *Aloineae* and *Yuccoideae*. *Journal of the Linnean Society of London*, 18(109), 148-241.
- Baker, J. G. (1892). Agaves and Arborescent Liliaceæ on the Riviera. *Bulletin of Miscellaneous Information Kew*, 1892(61), 1-10.
- Bartlett, A. T. (2019). Leaf fiber strength and fruit nutrient content of *Yucca* species native to the Navajo Nation. Master of Science dissertation. Brigham Young University. <https://scholarsarchive.byu.edu/etd/7554>.
- Bentham, G., & Hooker, J. D. (1883). *Genera plantarum*. London. Reeve & Co.
- Bessey, C. E. (1915). The Phylogenetic Taxonomy of Flowering Plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 2(1/2), 109-164. <https://doi.org/10.2307/2990030>

- Brenskelle, L., Barve, V., Majure, L. C., Guralnick, R. P., & Li, D. (2021). Analyzing a phenological anomaly in *Yucca* of the southwestern United States. *Scientific reports*, *11*(1), 20819.
- Bogler, D. J., Pires, J. C., & Francisco-Ortega, J. (2006). Phylogeny of Agavaceae based on *ndhF*, *rbcL*, and ITS sequences: Implications of molecular data for classification. *Aliso*, *22*, 313-328.
- Caballero, V. A. 2022. Modelación del nicho ecológico de *Yucca* (Asparagaceae, Agavoideae) para evaluar categorías de riesgo. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chase, M.W., Reveal, J.L., & Fay, M. F. 2009. A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *161*(2), 132-136. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00999.x>
- Clary, K. H. (1995). *Yucca linearifolia* (Agavaceae): A new, indehiscent, fleshy-fruited, linear-leaved species endemic to the Chihuahuan Desert, Mexico. *Brittonia*, *47*(4), 394-396. <https://doi.org/10.2307/2807567>
- Clary, K. H., & Simpson, B. B. (1995). Sistemática y evolución del género *Yucca* (Agavaceae): evidencias de análisis morfológicos y moleculares. *Botanical Sciences*, *56*, 77-88.
- Clary, K. (1997). *Phylogeny, character evolution, and biogeography of Yucca L. (Agavaceae) as inferred from plant morphology and sequences of the internal*

- transcribed spacer (ITS) region of the nuclear ribosomal DNA*. Ph.D. dissertation. University of Texas, Austin, Texas.
- Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press.
- Dahlgren, R. M. T., Clifford, H. T., & Yeo, P. F. (1985). *The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy*. Springer Verlag.
- De Jussieu, A. L. (1789). *Genera plantarum secundum ordines naturales disposita: juxta methodum in Horto Regio Parisiensi exaratum* (2nd ed.). Apud Viduam Herissant et Theophilum Barrois.
- Dillenius, J. J. & Herbarium of Oxford University. (1732). *Hortus Elthamensis, seu, Plantarum rariorum quas in horto suo Elthami in Cantio coluit vir ornatissimus et praetantissimus Jacobus Sherard: Guilielmi P. M. frater delineationes et descriptiones quarum historia vel plane non vel imperfecte a rei herbariae scriptoribus*. Sumptibus Auctoris.
- Endlicher, S. (1836). *Genera plantarum secundum ordines naturales disposita*. Apud Fridericum Beck.
- Engelmann, G. (1871). *Yucca and Hesperaloe*. Watson's Botany of the Fortieth Parallel. In Whashington Printing Office (Ed.), *Report of the United States Geological Exploration of the Fortieth Parallel*, Clarence King, Geologist in Charge (V. Supplement, pp. 496-497).

- Engelmann, G. (1873). Notes on the Genus *Yucca*. *Transactions of the Academy of Science of St. Louis*, 3, 17–54.
- Engler, A. (1888). Liliaceae. In A. E. Engler & K. Prantl (Eds.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien* (Teil II. Abt. 6. pp. 1091). Verlag von Wilhelm Engelmann.
- Espejo-Serna, A. y López-Ferrari, A. R. (1993). *Las monocotiledóneas mexicanas una sinopsis florística* (Parte I. Agavaceae, Alismaceae, Alliaceae, Alstroemeriaceae y Amaryllidaceae). Consejo Nacional de la Flora de México, A. C. y Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.
- García, B. A. (2010). *Evaluación de la actividad fotoprotectora y antioxidante de Yucca periculosa* Baker. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
- García-Mendoza, A. 1998. Una nueva especie de *Yucca* (Agavaceae) de Oaxaca y Puebla, México. *Acta Botanica Mexicana*, 42, 1-5. <https://doi.org/10.21829/abm42.1998.792>
- García Mendoza, A. (2011). *Agavaceae*. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hess, W. H., & Robins, L. (1996). *Yucca*. In Flora of North America Editorial Committee (Eds.), *Flora of North America* (Vol. 26, pp. 423-440). Retrieved from <http://www.efloras.org/florataxon.aspx>
- Hochstätter, F. (2013). A new species of *Yucca* (Agavaceae) from the north-western United States. *Cactus & Co.*, 17(1), 75-79.
- Hutchinson, J. (1934). *The families of flowering plants*. Vol. 2. Monocotyledons. MacMillan.

- Keith, E. L. (2002). *Yucca cernua* (Agavaceae: Series *Rupicolae*), A new species from Newton and Jasper Counties in Eastern Texas. *Sida*, 20, 891-898.
<https://www.jstor.org/stable/41968120>
- Lenz, L. W. (1998). *Yucca capensis* (Agavaceae, Yuccoideae), a new species from Baja California Sur, Mexico. *Cactus and Succulent Journal* 70(6): 289–296.
- Linnaeus, C. (1753). *Species plantarum*. Tomo 1. Impensis Laurentii Salvii, Holmiae.
- Luna, O. P. (2018). Diversidad genética de *Yucca capensis* (Asparagaceae), planta endémica de la Sierra de la Laguna. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
- McKain, M. R., McNeal, J. R., Kellar, P. R., Eguiarte, L. E., Pires, J. C., & Leebens-Mack, J. (2016). Timing of rapid diversification and convergent origins of active pollination within Agavoideae (Asparagaceae). *American Journal of Botany*, 103(10), 1717-1729.
- McKelvey, S. D. (1938). *Yuccas of the Southwestern United States*, part 1. Arnold Arboretum, Jamaica Plain.
- McKelvey, S. D. (1947). *Yuccas of the Southwestern United States*, part 2. Arnold Arboretum, Jamaica Plain.
- Mora-Olivo, A., Gaona-García, G., Treviño-Carreón, J., y Hurtado-González, M. (2009). Chochas: Las flores comestibles del desierto. *CienciaUAT*, 4(2), 10-13.
- Patel, S. (2012). *Yucca*: A medicinally significant genus with manifold therapeutic attributes. *Natural Products and Bioprospecting*, 2, 231-234.

- Pellmyr, O., & Huth, J. (1994). Evolutionary stability of mutualism between *Yuccas* and *Yucca* moths. *Nature*, 372 (6503), 257-260. <https://doi.org/10.1038/372257a0>
- Pellmyr, O., Thompson, J. N., Brown, J. M. & Harrison, R. G. (1996). Evolution of pollination and mutualism in the *Yucca* moth lineage. *The American Naturalist*, 148(5), 827-847.
- Pellmyr, O., Segraves, K. A., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M. & Leebens-Mack, J. (2007). The phylogeny of *Yuccas*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2), 493-501.
- Piña, I. (1989) Una nueva especie del género *Yucca* (Agavaceae). *Cactáceas y suculentas mexicanas*, 34(3), 51–56.
- Powell, J. A. (1992). Interrelationships of *Yuccas* and *Yucca* moths. *Trends in Ecology & Evolution*, 7(1), 10-15.
- Reveal, J. L. (1977). *Yucca*. In A. Cronquist, A. H. Holmgren, N. H. Holmgren, J. L. Reveal & P. K Holmgren (Eds.), *Intermountain Flora* (Vol. 6, pp. 527-536). Columbia University Press.
- Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México* [Primera edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México]. Recuperado de https://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx_Content.pdf
- Sheldon, S. (1980). Ethnobotany of *Agave lecheguilla* and *Yucca carnerosana* in Mexico's Zona ixtlera. *Economic Botany*, 34(4), 376-390. <https://doi.org/10.1007/bf02858314>

- Smith, C. I., Pellmyr, O., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M., Leebens-Mack, J., & Segraves, K. A. (2008). Pattern and timing of diversification in *Yucca* (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*, 275(1632), 249-258. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1405>
- Smith, G. F., Figueiredo, E., & Crouch, N. R. (2012). A first record of *Yucca aloifolia* L. (Agavaceae/ Asparagaceae) naturalized in South Africa with notes on its uses and reproductive biology. *Haseltonia*, 17, 87-93. <https://doi.org/10.2985/1070-0048-17.1.11>
- Speirs, D. C. (1979). *Yucca glauca* (Agavaceae) in Webstern Canada. *The National Cactus and Succulent Journal*, 34(3), 59.
- Takhtajan, A. (1997). *Diversity and Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press.
- The Plant List. (2013). Version 1.1. Website <http://www.theplantlist.org/> [accessed 10 Oct 2022].
- Trelease, W. (1902). The Yuceae. *Missouri Botanical Garden Annual Report, 1902*, 27-133.
- Weber, J. M. (1953). *Yuccas of the southwest*. *Agriculture monograph U.S. Department of Agriculture*, 17, 6-91.
- Zamudio, S. y Aguilar-Gutiérrez, G. (2020) Dos especies nuevas de Asparagaceae (Agavoideae) de los estados de Guanajuato y Querétaro, México. *Brittonia*, 72(2), 154-163.

CAPÍTULO I

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS AND CHARACTER EVOLUTION IN *YUCCA* (AGAVOIDEAE, ASPARAGACEAE)

Este artículo está concluido y organizado de acuerdo el formato solicitado por *American Journal of Botany* que será la revista a la que será enviado, ya ha sido revisado por todos los autores.

**Phylogenetic relationships and character evolution in *Yucca* (Agavoideae,
Asparagaceae)**

María M. Ayala-Hernández^{1,6}, Shannon D. Fehlbeg², Abisaí García-Mendoza³, Eloy Solano¹, Ricardo García-Sandoval⁴ & Marie-Stéphanie Samain⁵

¹Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. Batalla 5 de mayo s/n Esquina Fuerte de Loreto, Colonia Ejército de Oriente, Iztapalapa C.P. 09230, Ciudad de México, Mexico.

²Department of Research, Conservations and Collections, Desert Botanical Garden, 1201 N. Galvin Parkway, 85008 Phoenix, Arizona, U.S.A.

³Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Tercer Circuito exterior s/n, Ciudad Universitaria 04510 Coyoacán, Ciudad de México, Mexico.

⁴Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Ciudad de México, Mexico.

⁵Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Red de Diversidad Biológica del Occidente Mexicano, Avenida Lázaro Cárdenas 253, 61600 Pátzcuaro, Michoacán, Mexico.

⁶Author for correspondence: airamagay@yahoo.com.mx

Manuscript received _____; revision accepted _____.

Running head: Phylogeny and character evolution in *Yucca*.

Abstract

Premise of the study: The current classification of *Yucca* (Asparagaceae, Agavoideae) is based on morphological characters, mainly on fruit type. To investigate the evolution of these characters, and its potential taxonomic significance as synapomorphies for some groups within *Yucca*, a phylogenetic analysis was performed.

Methods: We analyzed the phylogenetic relationships of 52 taxa, 44 *Yucca* and nine outgroup species, based on nuclear and chloroplast DNA regions, and investigate the evolution of characters traditionally used in the classification of *Yucca*, like fruit type, caulescence, leaf margin and inflorescence type. Divergence times were estimated to produce a suitable phylogenetic framework for the investigation of morphological character evolution.

Key results: Maximum Likelihood and Bayesian Inference analyses showed closer phylogenetic relationship between *Hesperoyucca* and *Hesperaloe* than either of these two genera with *Yucca*. The sections previously proposed within the genus, based on fruit type, were not recovered as monophyletic. The ages of the *Yucca* stem and crown groups were estimated at 14.34 and 7.45 million years, respectively. More recent diversification events occurred in both the species with fleshy and dry fruits.

Conclusions: *Yucca* is monophyletic with two main clades, corresponding to the species with dry fruit (*Rupicola*) and fleshy fruit (*Aloifolia*). Partial geographical concordances were observed in both clades. The dispersal type could be a key character in the diversification of the genus. Leaf margin, caulescence, and inflorescence type are not consistent with phylogenetic relationships.

Key words: ancestral characters; Asparagales; Bayesian Inference; divergence times; fruit type; *Hesperaloe*; *Hesperoyucca*; ITS; phylogeny; *Sarcocarpa*.

INTRODUCTION

Yucca is an emblematic genus of mainly succulent, caulescent, acaulescent or semi-acaulous plants with economic and cultural importance. Plants are used as ornamentals, living fences and windbreaks; their fibers are extracted from the leaves to make twines, baskets, and other utensils; and their fruits and flowers are edible (Matuda and Piña, 1980; Sheldon, 1980; Bartlett, 2019). The roots, stems, leaves, flowers, and seeds of several species of this genus contain antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiabetic and hypocholesterolemic compounds, among others (Cheeke et al., 2006; Patel, 2012). Moreover, the genus is widely recognized because of its pollination mutualism with *Yucca* moths (Pellmyr et al., 2007; Smith et al., 2008).

Yucca consists of 40 to 49 species that have been classified since the 19th century in sections based on the fruit type, and in series according to leaf and floral characteristics (Figure 1; Engelmann, 1871, 1873; Baker, 1880; Trelease, 1902, 1907, 1911; McKelvey, 1938, 1947; Clary, 1997). For example, McKelvey (1938, 1947) recognized nine series, six with dry fruits, and three with fleshy ones. However, to date, there is no consensus species number agreed upon by botanists who study the genus, nor is it clear whether the classification in series and sections based on morphology corresponds to natural groups, or if similarities in morphology are due to adaptive convergences to the environment in which these plants occur.



1. *Yucca lacandonica*, 2. *Y. queretaroensis*, 3. *Y. reverchonii*, 4. *Y. brevifolia*, 5. *Y. linearifolia*, 6. *Y. gloriosa*, 7. *Y. baccata*, 8. *Y. valida*, 9. *Y. treculeana*, 10. *Y. rostrata*, 11. *Y. torreyi*, 12. *Y. aloifolia*, 13. *Y. schottii*, 14. *Y. arizonica*, 15. *Y. thompsoniana*, 16. *Y. capensis*, 17. and 18. *Y. jaliscensis*, 19. and 20. *Y. rigida*, 21. and 22. *Y. grandiflora*, 23. and 24. *Y. elata*, 25. and 26. *Y. guatemalensis*, 27. and 28. *Y. faxoniana*, 29. and 30. *Y. filifera*, 31. and 32. *Y. carnerosana*, 33. and 34. *Hesperoyucca whipplei*, 35. and 36. *Y. schidigera*, 37. and 38. *Y. coahuilensis*, 39. and 40. *Y. madrensis*.

Yucca is, after *Agave*, the most diverse genus of the ABK clade (Agavoideae with bimodal karyotype), within Asparagaceae subfamily Agavoideae, where 5 chromosomes are long and 25 are short (Stevens, 2001; The Plant List, 2013). Diversification in the ABK clade has been studied and related with geographic convergence (geographic locations, similar environments) and pollinators. McKain et al. (2016) proposed that the duplication of the complete genome of the ABK clade may have provided genomic plasticity allowing rapid adaptation in arid habitats and new interactions with pollinators, creating niches for the radiation of new species. For example, Good-Avila et al. (2006) suggest that the colonization of arid environments and the relationships of *Agave* with nectarivorous bats drove its diversification and accelerated its speciation more actively in the last 3 million years, especially in *Agave* subgenus *Agave*. Moreover, Jiménez-Barrón et al. (2020) considered that pollinators played an important role in the selection of the inflorescence type currently present in agaves.

The geographical distribution of *Yucca* ranges from Alberta in southern Canada to Guatemala (Engelmann, 1871, 1873; Speirs, 1979; Hurlburt, 2004). However, its greatest diversity and endemism occur in the arid and semi-arid zones of the southern United States of America and northern Mexico (Matuda and Piña, 1980; Clary, 1997). More than 50% of its species are microendemic and some species, such as *Yucca capensis*, *Y. coahuilensis*, *Y. linearifolia*, *Y. necopina* and *Y. queretaroensis*, have populations with few individuals (Lenz, 1998; Matuda and Piña, 1980; Clary, 1995; Locklear, 2017; Magallán et al., 2014).

The IUCN Red List (2021) includes 54 *Yucca* species: seven have been listed as Endangered (EN), one is Near Threatened (NT), 34 are Least Concern (LC), seven are Vulnerable (VU), and five Data Deficient (DD). Caballero (2022) assessed eight species according to the Mexican conservation status assessment tool MER, “Método de Evaluación de Riesgo de Extinción de Especies Silvestres en México” in Spanish, (SEMARNAT, 2010), and proposed *Y. lacandonica* as a species threatened with extinction. Some species are associated with a very particular habitat; for example, *Y. necopina* grows in deep coarse-textured soils eroded from sandstone strata by colluvial or alluvial processes (Locklear, 2017). Knowledge of the ecology, biogeography, and anatomy of many *Yucca* species is limited. Furthermore, the relationships with its most closely related genera remain controversial, and there is uncertainty regarding *Yucca*’s sister genus. Previous studies have pointed out that *Hesperaloe* and *Hesperoyucca* have a closer relationship with each other and that they are sister to *Yucca* (Bogler and Simpson, 1995; 1996; Clary and Simpson, 1995; 1997; Rocha *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2008; Halpin and Fishbein, 2013; Flores-Abreu *et al.*, 2019). In turn, *Yucca* is the sister group of *Agave sensu stricto*, *Beschorneria*, *Polianthes* and *Manfreda*, according to Smith *et al.* (2008) and Halpin and Fishbein (2013). However, according to other studies, *Agave sensu lato* is more closely related to *Furcraea* and *Beschorneria* than to *Yucca* (Bogler, 2006; Juárez-Barrón *et al.*, 2020).

With respect to the species relationships within the genus *Yucca*, Clary (1997) studied phylogenetic relationships using morphological characters and molecular data (ITS1 and ITS2), including 45 taxa of *Yucca* and four outgroup species. Her analysis showed only section *Yucca* to be monophyletic, whereas section *Clistocarpa* and series *Rupicolae* are more closely related to each other. Pellmyr *et al.* (2007), based on Amplified

Fragment Length Polymorphism (AFLP) data of 38 *Yucca* taxa, recovered the three recognized sections *Chaenocarpa*, *Clistocarpa* and *Sarcocarpa*, and series *Rupicola* as monophyletic. Moreover, *Y. queretaroensis* is sister to the remainder of the species, some of which were paraphyletic in this study. Smith et al. (2008), studying the relationships of 34 *Yucca* species, based on six chloroplast regions and the AFLP markers of Pellmyr et al. (2007), recovered *Yucca* as a monophyletic group, and *Agave sensu lato* as its sister genus. Moreover, in their analyses, the three sections are paraphyletic or polyphyletic, *Clistocarpa* is sister to both *Chaenocarpa* and *Sarcocarpa*, and *Y. queretaroensis* is recovered in *Sarcocarpa* and not as sister species to all other *Yucca* species. To date, chloroplast and nuclear sequences have not been used together to solve the phylogeny of *Yucca*, and species described since Clary's study (1997) a quarter of a century ago have not been included in a phylogenetic study.

As a consequence, the aims of the present study on *Yucca* are to: 1) provide a molecular phylogenetic hypothesis based on both chloroplast and nuclear ITS data of a highly representative sample, 46 taxa constituting 80% of *Yucca* species, the most complete to date, 2) to test former infrageneric classifications of *Yucca* and the monophyly of morphologically defined entities, and 3) investigate the evolution of some characters that have been used in the infrageneric classification of this genus, such as type and dehiscence of fruit, leaf margin and inflorescence type.

MATERIAL AND METHODS

Taxon sampling

DNA extraction, amplification, purification, and sequencing

To obtain the DNA of the *Yucca* species, field trips were made to Mexico and the United States of America from 2016-2019. In many cases and whenever possible, we tried to visit the type localities and representative locations according to Matuda and Piña (1980), who identified where the most representative populations of each *Yucca* species are in Mexico. Leaf tissue samples of *Yucca* and outgroup species were collected in silica gel for DNA isolation. Some sampling was completed with material of the living collections of the Botanical Garden of the National Autonomous University of Mexico (Mexico City, Mexico) and the Desert Botanical Garden (Arizona, United States of America). Other samples were provided by the Huntington Botanical Gardens Herbarium (HNT), Mercer Botanic Gardens (MERCIA) and private collectors. Species of the genera *Agave*, *Beaucarnea*, *Beschorneria*, *Dasyilirion*, *Hesperaloe* and *Hesperoyucca* were used as outgroup. The complete sampling list is shown in Appendix 1.

The following protocol was developed for the molecular analysis of *Yucca* species. DNA was extracted from dried leaf material of 58 taxa, 49 of *Yucca* and nine species of the outgroup, with commercial kits (OMEGA Bio-tek, Norcross, Georgia, USA; QIAGEN, Germantown, Maryland, USA). To evaluate which regions would be useful to analyze the phylogenetic relationships of *Yucca*, 10 regions were used initially, three from the nucleus and seven from the chloroplast. For the latter, Shaw et al. (2007) was followed (Table 1). However, only four regions amplified: ITS 18S and 26S from the nucleus and rps16exF-rps16exR, trnH-psbA and rpl32-trnL from the chloroplast. Polymerase chain reactions (PCR) for each region were performed in 12.5 µl volume reactions, containing 2.75 µl nuclease free water, 6.25 µl KAPA2G Robust HotStart ReadyMix (Kapa Biosystems, Woburn, Massachusetts, USA), 0.75 µl of 10µM forward primer, 0.75 µl of 10 µM reverse

primer, and 2.0 µl DNA template. Thermocycling conditions (Mastercycler Pro, Eppendorf, Westbury, New York, USA) consisted of an initial denaturation step of 3 min at 95°C, followed by 35 cycles of 95°C for 15 s, 55°C for 15 s, and 72°C for 30 s; and a final elongation step of 1 min at 72°C. Purification was carried out by adding 0.025 µl exonuclease I and 0.125 µl shrimp alkaline phosphatase (Affymetrix, Santa Clara, California, USA), and incubating at 37°C for 30 min followed by 95°C for 5 min. Both forward and reverse sequences were obtained using 1/16 BigDye Terminator v. 3.1 (Life Technologies, Grand Island, New York, USA) cycle sequencing reactions and the same primers used for amplification. Thermocycling conditions were 94°C for 1 min, and 25 cycles of 94°C for 10 s, 50°C for 5 s, and 60°C for 30 s. Sequencing took place at the Molecular Biology laboratory of the Arizona State University (ASU) with an ABI 3730XL Hitachi sequencer from ThermoFisher (Carlsbad, California, USA).

Table 1. *Yucca* primers used in this study and references.

Nuclear	Region	Primer	Region	Primer	Reference
ITS	ITS-26S	TTTCTTTTCCTCCGCT	ITS-18S	AAGTCGTAACAAGGTTTC CGTAGGTG	Bogler 1996
ITS	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTA ACAAGG	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATG C	White 1990
ETS	18S-ETS	ACTTACACATGCATGGC TTAATCT	Ast-8	TTCTCTTCGTATCGTGCGG T	Baldwin and Markos 1998; Markos and Baldwin 2001
PPC	PPCX4F	ACTCCACAGGATGAGA TGAG	PPCX5R	GCGCCATCATTCTAGCCA A	Olson 2002
Chloroplast					
trnQ-rps16	trnQ (UUG)	GCG TGG CCA AGY GGT AAG GC	rps16x1	GTT GCT TTY TAC CAC ATC GTT T	Shaw et al. 2007
trnV-ndhC	trnV (UAC) x2	GTC TAC GGT TCG ART CCG TA	ndhC	TAT TAT TAG AAA TGY CCA RAA AAT ATC ATA TTC	Shaw et al. 2007
trnT-trnL	trnT UGU F(Tab A)	CAT TAC AAA TGC GAT GCT CT	trnL UAA R (TabB)	TCT ACC GAT TTC GCC ATA TC	Taberlet et al. 1991
rps16-intron	rps16-for-alt	CACCATTTTCTATAGGA ATGAAGATGC	rps16-rev-alt	CGATAGATCGCTCATTGG GATAGATGT	Smith et al. 2008
rps16-intron	rps16-ex1-for TAG	CGTTTGAAACGATGTGG	rps16-ex2-rev CCTAC	CGTATCGGATCGTAAAAA CCTAC	Downie & Katz-Downie 1999
trnH-psbA	trnH (GUG)	CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	psbA	GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C	Tate and Simpson 2003; Sang et al. 1997
rpl32-trnL	rpl32F	CAG TTC CAA AA A AAC GTA CTT C	trnL(UAG)	CTG CTT CCT AAG AGC AGC GT	Shaw et al. 2007

Data analyses

Phylogenetic hypothesis reconstruction

Sequences were obtained for each DNA region for each DNA extraction; however, only 248 had high quality, 52 of them corresponding to ITS 18S-26S, including 44 *Yucca* species and eight from the outgroup: *Dasyilirion* (1), *Agave* (2), *Beschorneria* (1), *Hesperaloe* (2) and *Hesperoyucca* (2). Of the three plastid regions, 72 sequences were obtained both for trnH-psbA and for rpl32-trnL, and 52 for rps16. However, complete sequences for all three chloroplast regions were obtained for 44 species only, of which 40 correspond to *Yucca* and four to the outgroup, *Beaucarnea* (1), *Beschorneria* (1) and *Hesperoyucca* (2). The sequences of each species were viewed and edited individually using Geneious Prime v. 2020.2.4 (<http://www.geneious.com>). Subsequently, sequences were aligned in a matrix for ITS, and the three regions of the chloroplast were aligned individually using the MUSCLE algorithm (Edgar, 2004) as implemented in Geneious, and then concatenated. In addition, sequences were corroborated with UGENE v. 38 (Okonechnikov et al., 2012). The evolutionary models for each region were calculated with jModelTest v. 2 (Darriba et al., 2012) under the BIC criterion (Bayesian Informative Criterion).

Divergence time estimation

Maximum Likelihood and Bayesian Inference analyses were performed separately for the two matrices obtained, the ITS matrix and the one that included the three chloroplast regions. With the ITS matrix, Maximum Likelihood (ML) analysis was carried out in RAxML v. 8 (Stamatakis, 2014) for 10 000 generations with 1000 bootstrap (BS)

replicates, while Bayesian Inference (BI) was carried out in MrBayes v. 3.2.2 (Ronquist and Huelsenbeck 2003), with two independent runs with four chains (two hot and two cold) for 20,000,000 iterations and resampling every 1000 generations, discarding 25% of the samples as burn-in. In both analyses, the evolutionary model used was GTR + G (General Time Reversible plus with a Gamma Distribution), and *Dasyilirion longissimum* was used to root the trees. For the chloroplast matrix, the partitions corresponding to each region were established, and the ML and BI analyses were performed with the same parameters used for ITS. The models obtained for each region were F81 for *psbA-trnH*, TIM + I + G for *rpl32-trnL* and TPM3uf for exon *rps16* (Supplementary material, Table S1).

The phylogenetic hypothesis obtained from the BI analysis of ITS was used to estimate divergence times in *Yucca* and its sister genera. For this purpose, a relaxed molecular clock analysis was carried out in BEAST v. 2 (Bouckaert et al., 2014), under an “uncorrelated relaxed clock” model with a log normal distribution and Birth-Death model as a tree prior. The root of the tree was calibrated with a mean of 62.49 Ma (million years), corresponding to Asparagales following Magallón et al. (2015), using a log normal distribution. The stem age of *Yucca* was set with a mean of 14.2 Ma, with a log normal distribution, corresponding to the fossil *Protoyucca shadissii* from the middle Miocene, which is closely related with the contemporary *Yucca* species (Tidwell and Parker, 1990). The analysis was run for 400,000,000 generations sampling every 20 000, 10% of which was discarded as burn-in. The molecular clock analysis was conducted in the CIPRES Science Gateway (Miller et al., 2010). Log outputs of the BEAST analysis were evaluated with Tracer v. 1.5 (Rambaut et al., 2018). Files containing the trees sampled for each execution of the MCMC run were analyzed with LogCombiner v. 1.7.5 (Helfrich et al.,

2018, annotated using TreeAnnotator v. 1.7.5 (Helfrich et al., 2018), and finally visualized using FigTree v. 1.4.0 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Ancestral character state reconstruction

The obtained phylogenetic framework was used to evaluate the evolution of morphological characters that have been used to recognize sections and series within the genus *Yucca*, such as fruit type, caulescence, inflorescence type, and leaf margin. To prepare the matrix of morphological characters, descriptions of the species were consulted in the relevant treatments of the Flora of North America (Hess and Robins, 1996), Flora Mesoamericana (García-Mendoza and Lot, 1994), as well as morphological studies and species protologues (Matuda and Piña, 1980; Clary and Simpson, 1995; Clary, 1995); Magallán et al., 2014; Thiede, 2020). Each character was coded as binary: dry fruit = 0, fleshy fruit = 1; dehiscent fruit = 0, indehiscent fruit = 1; mainly acaulescent plants = 0, mainly caulescent plants = 1; leaf margin entire = 0, denticulate = 1, and inflorescence spike = 0, raceme or panicle = 1 (Appendix 2).

Reconstruction of ancestral character states was performed in BayesTraits v. 3.0.2 (Pagel et al., 2004). To account for the uncertainty in the estimation of the topology as well as divergence times we performed the analysis over a random sample of 500 post burn-in topologies obtained from the divergence times analysis. Each character was reconstructed using the BayesMultistate model in a BI context. Initially, a ML analysis was performed to derive empirical prior values for the Bayesian analysis. After establishing these a priori values for each different character, a BI analysis was performed, using a reversible jump Monte Carlo Markov Chain (rjMCMC) for 5 million generations, sampling every 10,000

generations, and discarding 10% as burn-in. Chain convergence was verified with trace graphs and Effective Sample Size values (ESS). These results were plotted in R v. 1.13 (R Core Team, 2021) following the script by Harrington and Reeder (2017), which allows graphing the probability that each character state occurs at a given node and evaluates the probability that it does not exist in some other nodes.

RESULTS

Phylogenetic relationships based on ITS sequences

Phylogenetic relationships were constructed from an alignment that includes 44 *Yucca* species and eight outgroup species as mentioned above. This matrix consisted of 752 aligned base pairs, with 127 variable sites, of which 86 are informative. The results of the ML and BI analyses were congruent, mainly in the earliest diverging nodes (Figure 2). There are similar groupings in the ML tree; however, the support values for the nodes were not as high as in the BI tree (Figure S1). *Agave* and *Beschorneria* are sister genera (bootstrap (BS)=99%, posterior probability (PP)=0.99), as are *Hesperaloe* and *Hesperoyucca* (BS=94%, PP=0.99). In both analyses, all *Yucca* species form a single clade (BS=60%, PP=1.0) that is divided into two subclades, the first one with 18 species and the second one with 26, each consisting moreover of two groups. Finally, the series proposed by McKelvey (1938, 1947) were not recovered as monophyletic.

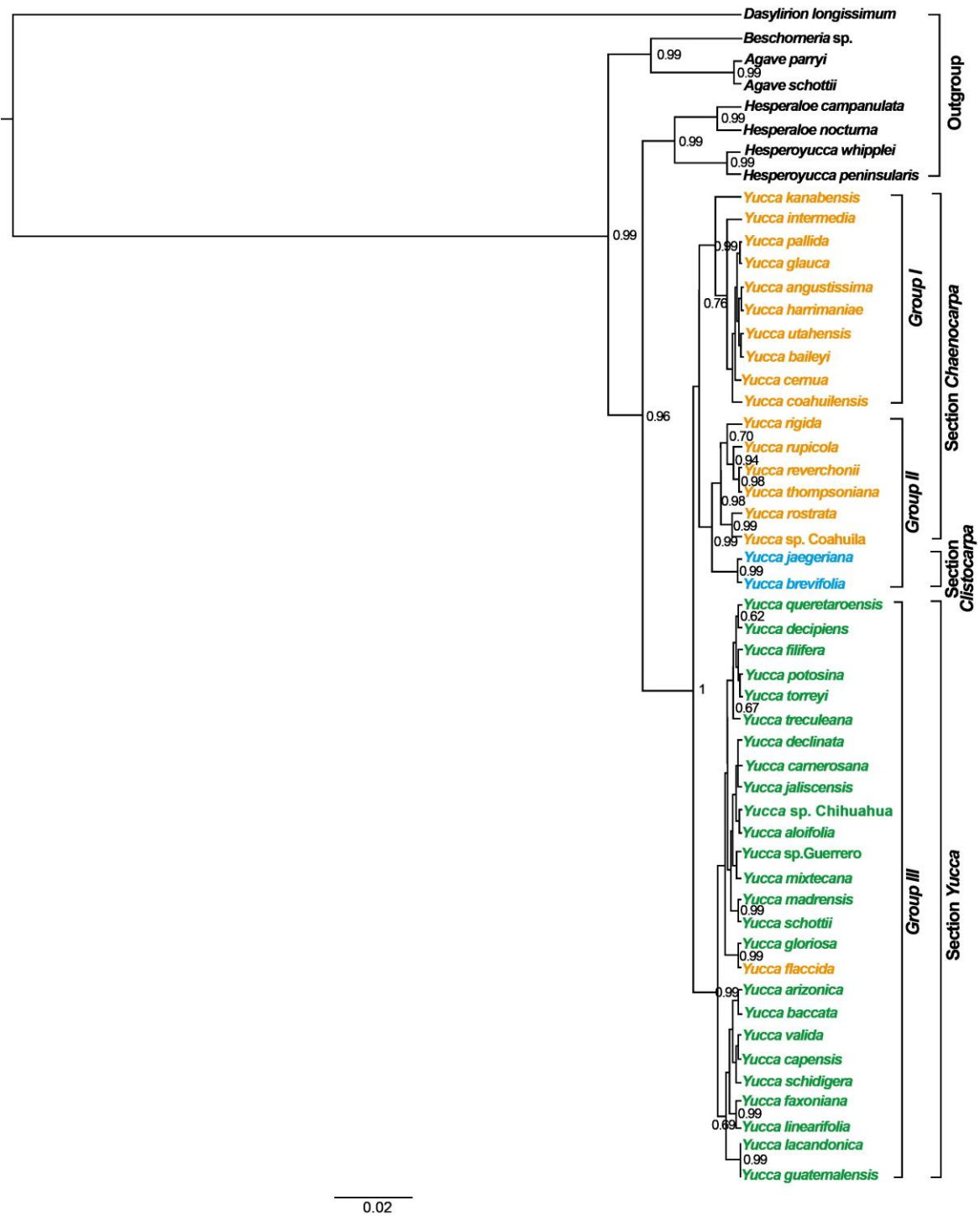


Figure 2. ITS topology obtained through Bayesian Inference analysis, the numbers close to the nodes indicate the posterior probability values, only those greater than 0.6 are shown.

Phylogenetic relationships based on chloroplast sequences

Divergence time estimation

Phylogenetic relationships were constructed from an alignment that included 40 *Yucca* species and four outgroup taxa as mentioned above. The matrix consisted of 2547 aligned base pairs, of which 705 corresponded to *trnH-psbA*, 864 to *rpl32-trnL* and 978 to the *rps16* exon. Within these data, 163 variable sites were observed, 67 of which were informative. The topologies obtained by BI and ML were similar with respect to the relationships between the species. *Beschorneria* and *Hesperoyucca* were grouped together, and *Yucca* was recovered as monophyletic (PP=1). However, the sections and series were not recovered as monophyletic, and some major clades show geographical patterns instead, mainly corresponding with the arid zones of the USA and Mexico, and another clade included species from the Mexican Transition Zone. Among them were the one made up of *Y. rigida*, *Y. coahuilensis*, *Y. rostrata*, *Y. thompsoniana*, *Y. campestris*, *Y. necopina*, *Y. intermedia*, *Y. glauca*, *Y. reverchonii*, *Y. baileyi*, *Y. sp. Coahuila*, *Y. lacandonica* and *Y. guatemalensis*. Except for the latter two, the aforementioned species occur in the north of the Chihuahuan desert and the Great Plains. Another clade consisted of *Y. valida*, *Y. capensis*, *Y. grandiflora*, *Y. baccata*, *Y. schidigera* and *Y. madrensis*, while another group includes *Y. jaegeriana*, *Y. brevifolia*, *Y. utahensis*, *Y. angustissima* and *Y. harrimaniae*. These species groups are in the Mojave and Sonoran deserts, in addition to some parts of the Great Canyon and the Colorado Plateau. Another subclade was made up of species that occur in the Chihuahuan desert and the Mexican Transition Zone like *Y. filifera*, *Y. linearifolia*, *Y. potosina*, *Y. faxoniana*, *Y. sp. Chihuahua*, *Y. periculosa*, *Y. mixtecana* and *Y. torreyi*. Likewise, relationships with high PP values were recovered as *Y. lacandonica*-*Y.*

guatemalensis (1), *Y. gloriosa*-*Y. flaccida* (1), *Y. periculosa*-*Y. mixtecana*, *Y. jaegeriana*-*Y. brevifolia* (0.99), and *Y. utahensis*-*Y. angustissima*-*Y. harrimaniae* (0.97). BI topology can be found in the Supplementary material (Figure S2).

Estimates of divergence times for *Yucca* species and closely related genera were obtained from BEAST analyses based on the ITS phylogeny (Figure 3). Results indicate that the stem group consisting of *Agave*-*Beschorneria*, *Hesperaloe*-*Hesperoyucca* and *Yucca* has an estimated age of 19.46 Ma, corresponding to the beginning of the Miocene, the *Yucca* stem separated towards the middle Miocene at about 14.34 Ma, and the separation of the crown group of the genus occurred 7.45 Ma ago, during the late Miocene. Within *Yucca* there were two main divergence events, the first happened 6.12 Ma and includes groups I and II made up of *Y. angustissima*, *Y. baileyi*, *Y. pallida*, *Y. harrimaniae*, *Y. glauca*, *Y. kanabensis*, *Y. utahensis*, *Y. coahuilensis*, *Y. cernua*, *Y. intermedia*, *Y. thompsoniana*, *Y. reverchonii*, *Y. rupicola*, *Y. rigida*, *Y. rostrata*, *Y. sp. Coahuila*, *Y. brevifolia* and *Y. jaegeriana*, here named the *Rupicola* clade, while the second event has an estimated age of 3.6 Ma, and is represented by groups III and IV or the *Aloifolia* clade that includes to *Y. jaliscensis*, *Y. sp. Chihuahua*, *Y. aloifolia*, *Y. sp. Guerrero*, *Y. schotti*, *Y. madrensis*, *Y. mixtecana*, *Y. declinata*, *Y. carnerosana*, *Y. torreyi*, *Y. filifera*, *Y. potosina*, *Y. decipiens*, *Y. queretaroensis*, *Y. treculena*, *Y. flaccida*, *Y. gloriosa*, *Y. capensis*, *Y. valida*, *Y. schidigera*, *Y. guatemalensis*, *Y. lacandonica*, *Y. arizonica*, *Y. baccata*, *Y. linearifolia* and *Y. faxoniana*.

Within the *Rupicola* clade there are two main divergence events: the first event of this clade has an age of 4.45 Ma and includes three of the four species classified by McKelvey (1947) in series *Rupicolae* (*Y. rostrata*, *Y. rupicola* and *Y. thompsoniana*), and

that were recovered by Clary (1997) in her phylogenetic hypothesis, where also *Y. reverchonii* and *Y. rigida* were included. The latter species are known from the southwest of the USA and northern Mexico. Apart from the dry fruit, both species also share the corneous, yellowish, and denticulate leaf margin. A yet undescribed species from Coahuila is also included here. The node of 0.77 Ma includes *Y. brevifolia* and *Y. jaegeriana*, whose fruits are dry but indehiscent. The second divergence event occurred 2.1 Ma and includes species mainly from the Colorado Plateau and Great Basin, except for *Y. cernua*, *Y. pallida* and *Y. coahuilensis*, the first two being located in Texas, and the last one only known from the state of Coahuila in northern Mexico.

The *Aloifolia* clade shows a divergence event at a node whose age is 2.17 Ma, where species located mainly in northwestern Mexico and southwestern USA in the Mojave and Sonoran deserts are related to each other, including *Y. schidigera*, *Y. valida*, *Y. capensis*, *Y. baccata* and *Y. arizonica*. *Yucca linearifolia* and *Y. faxoniana* occur at the limits of the Chihuahuan Desert and the north of the Sierra Madre Oriental. The exceptions are *Y. lacandonica* and *Y. guatemalensis* that inhabit the south of the Sierra Madre Oriental and the plains of the Gulf of Mexico. In another divergence event whose age is 2.27 Ma, there are mostly *Yuccas* with fleshy fruit such as *Y. torreyi*, *Y. filifera*, *Y. potosina*, *Y. decipiens*, *Y. queretaroensis* and *Y. treculeana*, which are distributed primarily in the Chihuahuan Desert, a geographic region located from Texas to Hidalgo. Also included are additional species occurring in the Trans-Mexican Volcanic Belt, and *Y. gloriosa* and *Y. flaccida*, both of which are located in the coastal area of the southeastern USA.

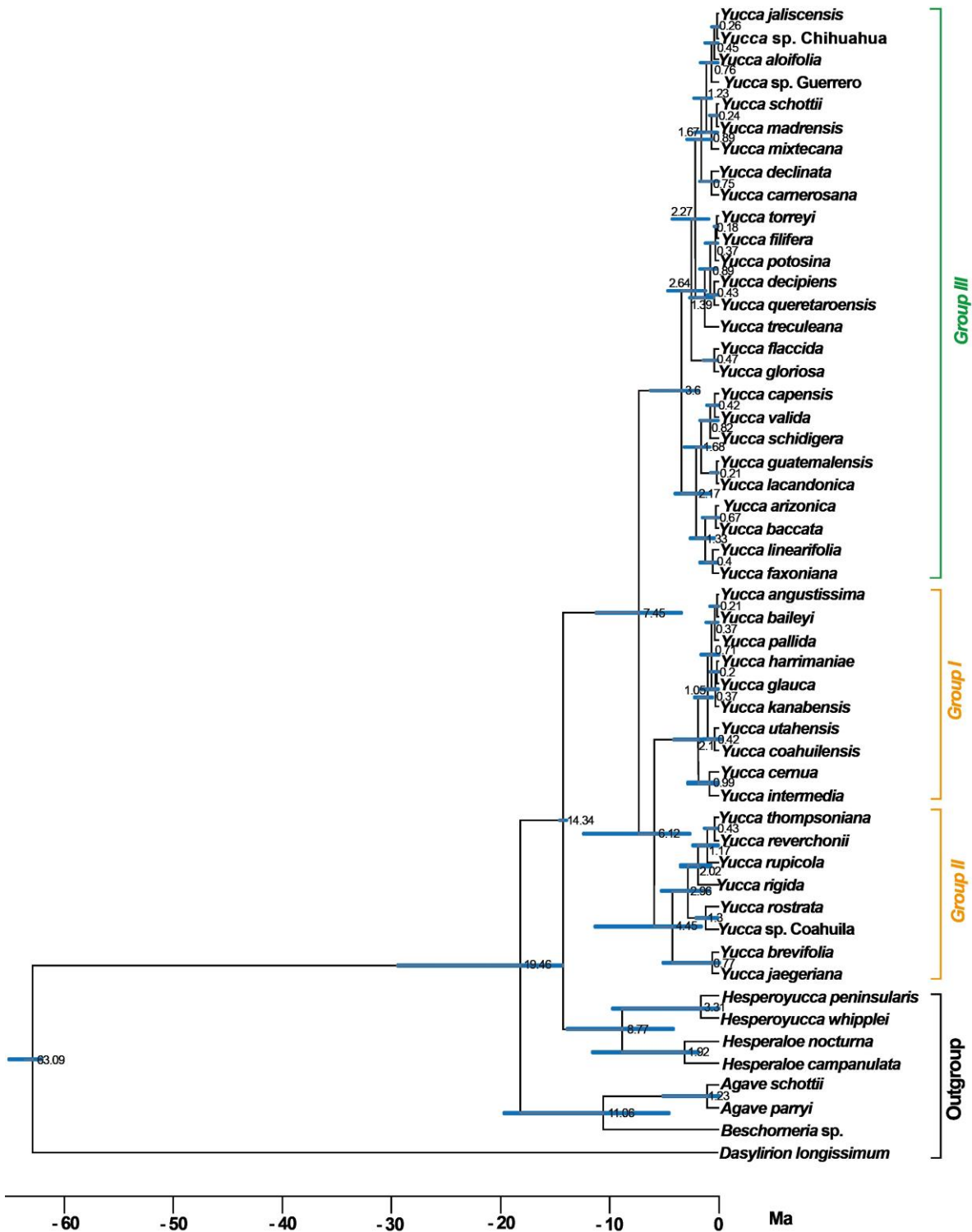


Figure 3. Chronogram obtained from the maximum clade credibility (mcc) tree in which the diversification times of *Yucca* species and some closely related genera can be observed. Numbers indicate mean divergence times and mean ages, and subsequent densities (HPD) higher than 95% are represented by blue bars.

Ancestral character state reconstruction

Ancestral state reconstruction with respect to the fruit and dehiscence types correspond with the main clades obtained in the phylogenetic hypothesis (Figures 4 and 5). In contrast, the caulescence, leaf margin and inflorescence type vary between the major clades in the phylogenetic trees (Supplementary material, Figures S3, S4 and S5). In *Yucca*, the ancestral character state is the dry fruit while the fleshy fruit originated later. The ancestral character state for fruit dehiscence is the dehiscent fruit. The ancestor of *Agave*, *Beschorneria*, *Hesperaloe*, *Hesperoyucca* and *Yucca* had dry fruit (93%), as well as the clade containing *Agave-Beschorneria* (93%), and that of *Hesperaloe* and *Hesperoyucca* (97%). The node including *Hesperaloe-Hesperoyucca-Yucca*, which also is the stem group, had a probability of 92% of dry fruit, while the *Yucca* crown group presented a probability of 77%.

Subsequently, this character state diversified in two large groups: in one of them (clade *Rupicola*) the dry fruit remained with 45 % probability, while the second group (clade *Aloifolia*) changed to fleshy fruit. Therefore, the probability of dry fruit in the latter clade is 5%; *Y. flaccida*, which reverted to dry fruit, can be found in this group.

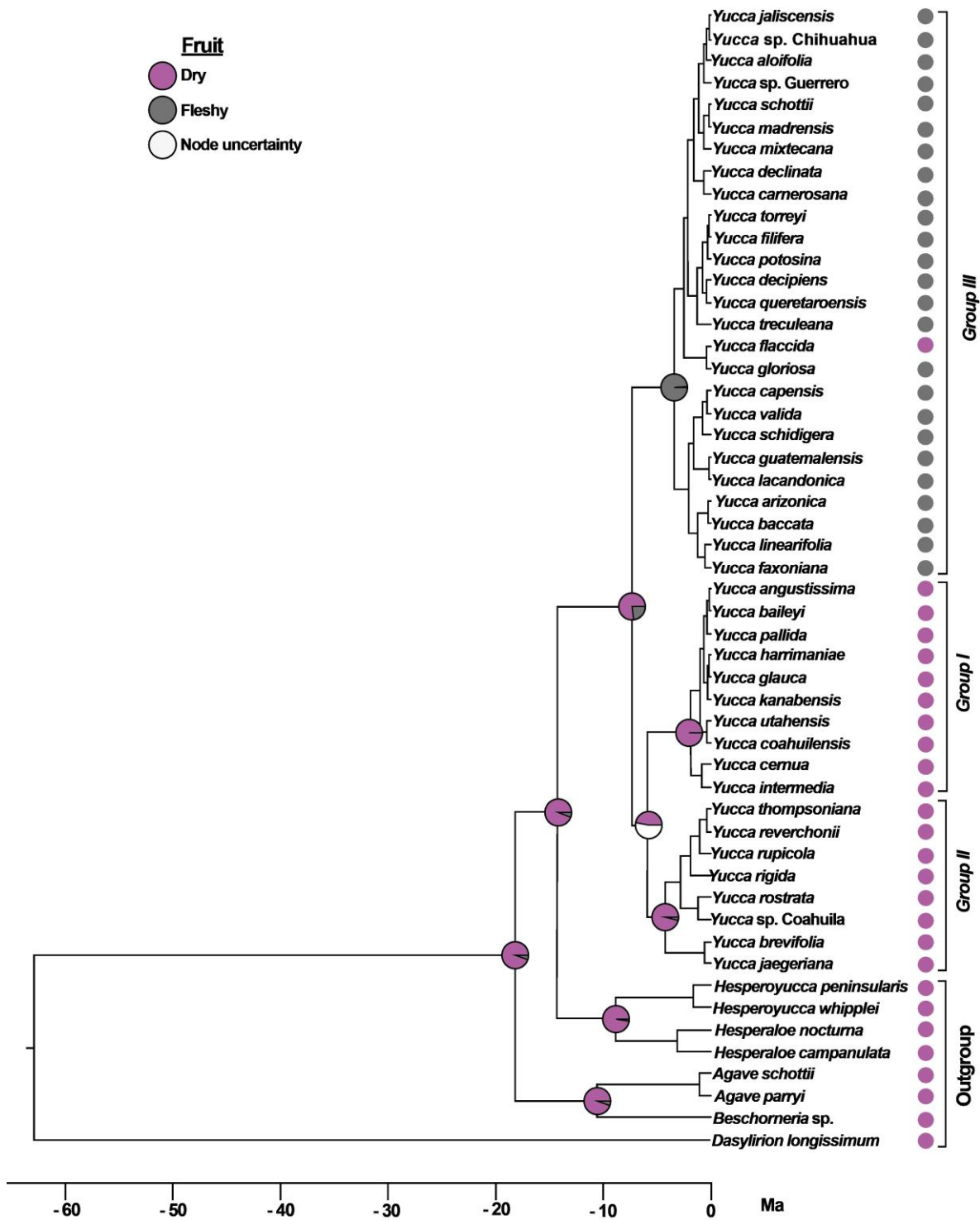


Figure 4. Ancestral state reconstruction of the fruit type indicated on the tree of maximum clade credibility obtained by Bayesian inference in BEAST. The circles indicate the probability of the fruit type at each node.

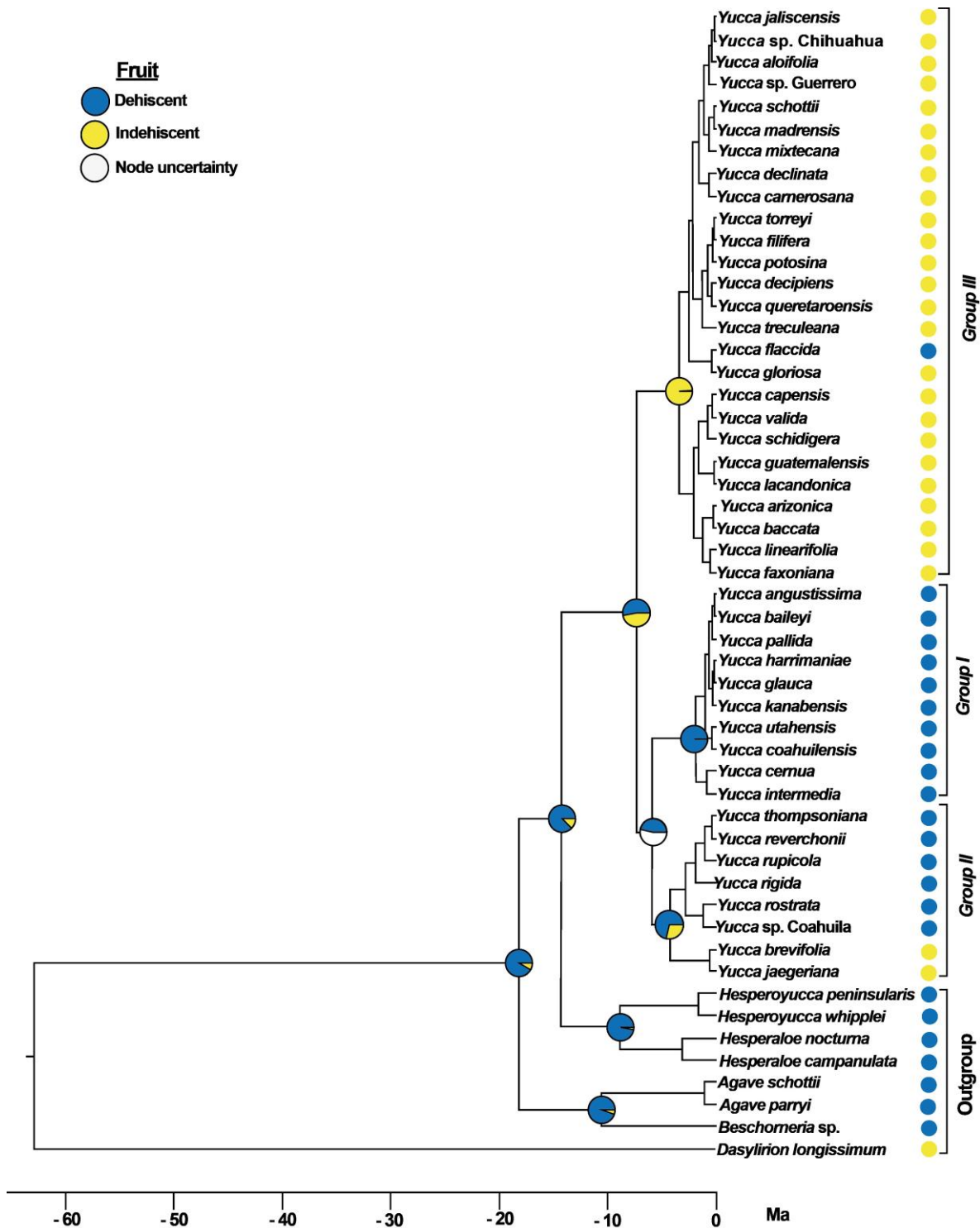


Figure 5. Ancestral state reconstruction of the fruit dehiscence indicated on the tree of maximum clade credibility obtained by Bayesian Inference in BEAST. The circles indicate the probability of the dehiscence fruit type at each node.

With respect to fruit dehiscence, the ancestor of *Beschorneria-Agave-Hesperaloe-Hesperoyucca* and *Yucca* had a probability of 91% of dehiscent fruit, 85% for the stem group, and 56% for the crown group. The probability for the node corresponding to clade *Rupicola* is 44 %. This clade consists of two subclades with mainly species with dehiscent fruits: the first one with 99 % probability, while the second one, where *Y. brevifolia* and *Y. jaegeriana* with indehiscent fruits can be found, had 69 % probability. The node of clade *Aloifolia* had a 1% probability of its ancestor presenting dehiscent fruits; except for *Y. flaccida*, the remainder of the species have indehiscent fruits.

With respect to caulescence, the ancestor of *Beschorneria-Agave-Hesperaloe-Hesperoyucca* and *Yucca* had a probability of 78% of being mainly acaulescent plants, 56% for the stem group, and 9% for the crown group. In clade *Rupicola*, the node corresponding to Group I has a probability of 71%, whereas the probability in Group II is 2%. For clade *Aloifolia*, the probability is 1%. With respect to leaf margin, the node probability values are 43 % for a mainly entire leaf margin in the ancestor of *Beschorneria-Agave-Hesperaloe-Hesperoyucca* and *Yucca*, 72% for the stem group, 76% for the crown group, 96% corresponding to Group I, 2% corresponding to Group II, and 98% for clade *Aloifolia*. Finally, the inflorescence was the character state that varied least; the node values were 79% for the ancestor of *Beschorneria-Agave-Hesperaloe-Hesperoyucca* and *Yucca*, 98% for the stem group, 100% for the crown group, 100% for Group I, 99% for Group II, and 100% for Group III with respect to the type II inflorescence which is a simple or ramified raceme (Figure S5). All clades and character states and their probabilities are summarized in Table 2.

Table 2. Clades and character states and their probabilities.

Clades	DF	FF	DhF	IhF	AMA	CMA	MLE	MLD	IT1	IT2
ABK	0.93	0.07	0.91	0.09	0.78	0.21	0.43	0.55	0.20	0.79
YSG	0.92	0.08	0.85	0.15	0.56	0.44	0.72	0.28	0.02	0.98
YCG	0.77	0.23	0.56	0.44	0.09	0.91	0.76	0.24	0.00	1.00
YFF (Group III)	0.01	0.99	0.01	0.99	0.00	1.00	0.98	0.02	0.00	1.00
YDF	0.46	0.01	0.44	0.03	0.03	0.06	0.11	0.18	0.00	0.46
YDF I (Group I)	1.00	0.00	1.00	0.00	0.71	0.29	0.96	0.04	0.00	1.00
YDF II (Group II)	0.95	0.05	0.69	0.31	0.02	0.98	0.02	0.98	0.00	0.99
H-H	0.97	0.03	0.97	0.03	0.96	0.04	0.58	0.42	0.02	0.98
B-A	0.93	0.07	0.93	0.07	0.93	0.07	0.13	0.87	0.60	0.39

Clades: **ABK** (Agavoideae Bimodal Karyotype: *Beschorneria*, *Agave*, *Hesperaloe*, *Hesperoyucca* and *Yucca*); **SG:** *Yucca* Stem Group; **YCG:** *Yucca* Crown Group; **YFF:** *Yucca* Fleshy Fruit; **YDF:** *Yucca* Dry Fruit; **YDF I:** *Yucca* Dry Fruit I (Group I); **YDF II:** *Yucca* Dry Fruit II (Group II); **H-H:** *Hesperaloe-Hesperoyucca*; and **B-A:** *Beschorneria-Agave*. **Characters:** **DF**=Dry fruit, **FF**=Fleshy fruit, **DhF**=Dehiscent fruit, **IhF**=Indehiscent fruit, **AMA**=Plants mainly acaulescent, **CMA**=Plants mainly caulescent, **MLE**= Margin leaf mainly entire, **MLD**=Margin leaf mainly denticulate, **IT1**=Inflorescence spike or mainly spike, and **IT2**=Inflorescence raceme simple or branched.

DISCUSSION

Phylogenetic relationships based on ITS do challenge the current *Yucca* classification

According to the phylogenetic hypothesis obtained from ITS, *Beschorneria* and *Agave* are sister genera (PP=0.94) and *Hesperoyucca* is a genus distinct from *Yucca*, containing three species: *H. newberry*, *H. peninsularis* and *H. whipplei* (Figure 2). However, McKinney and Hickman (1993) considered that the latter two species are synonyms and they only recognized *H. whipplei*. *Hesperoyucca* is more related to *Hesperaloe* (PP=0.99), as already found by previous authors (Clary, 1997; Flores-Abreu et al., 2019; Jiménez-Barrón et al., 2020).

The ITS-based phylogenetic hypothesis supports *Yucca* as a monophyletic genus; however, neither the sections nor their series proposed by Engelmann (1873) and McKelvey (1938, 1947) were recovered as monophyletic groups. This may be due to the characters on which previous classifications were based, being mainly foliar, such as the presence or absence of filaments and teeth of the margin, and reproductive, such as the length of the pistil and floral tube. With respect to these characters, Verhoek-Williams (1975), for the tribe *Poliantheae*, and Rocha et al. (2006), in *Agave*, showed that such convergences are related to dry environments and dry periods alternated with rainy periods, while the variation in the length of the floral tube and the pistil are likely more related to the mainly arid and semi-arid habitats in which many *Yucca* species occur.

Whitin *Yucca* two well supported clades were recovered, each one having undergone two divergence events, one leading to dry fruit and the other one to fleshy fruit (Fig. 2). The first clade contains 18 species with dehiscent or indehiscent dry fruit, here recognized as the clade *Rupicola*, consisting of two subclades: the first one including 10 species distributed in the southwestern USA, most with filiferous leaf margin, except *Y. cernua* characterized by corneous leaf margin. The second group consists of eight species, distributed in the southwestern USA and northern Mexico, all with denticulate leaf margin. These phylogenetic relationships are similar to those presented by Clary (1997).

The second clade, which we here recognize as *Aloifolia*, includes 26 species with indehiscent-fleshy fruit (except *Yucca flaccida* which has a dry fruit). *Aloifolia* clade is well-represented in Mexico as there are 24 native species distributed here. The species with the northernmost distribution are *Y. baccata* and *Y. gloriosa*; the first one occurs in the southwest of the USA and northern Mexico in Sonora and Chihuahua, while the second one

is endemic to the southeast of the USA, along the Atlantic Coast from North Carolina to Louisiana. On the other hand, the southernmost species are *Y. guatemalensis* and *Y. lacandonica*. *Yucca aloifolia* is a special case as it is a cultivated species with a broad distribution, from the southeastern USA to Nicaragua. Species with occurrence in both Mexico and the USA are *Y. aloifolia*, *Y. arizonica*, *Y. baccata*, *Y. faxoniana*, *Y. madrensis*, *Y. treculeana* (Hess and Robins, 2002), and *Y. carnerosana* (McKelvey, 1938). In general, the species of this clade are arborescent plants growing in xerophytic scrub (*Y. filifera*, *Y. mixtecana*), temperate or tropical forests (*Y. baccata*, *Y. capensis*), to rainforests and cloud forests (*Y. guatemalensis* and *Y. lacandonica*). This clade also consists of two subclades, the first one with 17 species occurring from the Mexican Plateau, north-central Mexico, and the east coast of the USA, to northernmost North Carolina. The second subclade consists of nine species distributed from California to Baja California, Sonora, Chihuahua, and Nuevo León in Mexico, except for *Y. lacandonica* and *Y. guatemalensis* distributed in southeastern Mexico and Guatemala.

The ancestor of the clade *Aloifolia* had a fleshy fruit, which was maintained in the remainder of the species of this group, except for *Y. flaccida*. This is probably due to hybridization processes, as is the case of *Y. gloriosa*, which is a young hybrid between *Y. aloifolia* and *Y. filamentosa* according to Heyduck et al. (2021). Another reason may be introgression as mentioned by Hanson (1993) and Arteaga et al. (2020), which has been demonstrated in *Y. schidigera*, *Y. baccata*, *Y. capensis* and *Y. valida*, phenomena that are facilitated by pollinators, in addition to gene duplication, a process that has been documented in Agavoideae (McKain et al., 2012).

The first highly supported (PP=0.98) subclade of *Rupicola* consists of *Y. sp.* Coahuila (a yet undescribed species from the state of Coahuila), *Y. rostrata*, *Y. rigida*, *Y. rupicola*, *Y. reverchonii*, and *Y. thompsoniana*, and is characterized by dry fruits, acaulescent or caulescent habit, and finely toothed leaf margins with a yellowish line. However, in this study neither *Y. pallida* nor *Y. cernua* are included in this subclade, which contrasts with the results obtained by Clary (1997), who also recorded that the taxa included in the series *Rupicolae* (McKelvey, 1947) possess an extra 27 bp indel in the ITS 1 and 2 region, which is absent in the other species of the genus. To date, we did not observe this indel in our ITS, 18 S and 26 S alignments in any of our study species. A second highly supported (PP=0.99) subclade of *Rupicola* consists of *Y. jaegeriana* and *Y. brevifolia*, which are considered to be a single species, as already proposed by several authors (Reveal 1977; Hess and Robins, 2002; Thiede, 2020), although others have considered these as two separate species (Smith et al., 2021).

More recently, Heyduck et al. (2021) based on the comparison of complete chloroplast genomes, discovered that *Y. gloriosa* is a young hybrid between cultivated *Y. aloifolia* and *Y. filamentosa*, which may explain the close phylogenetic relationship between *Y. gloriosa* and *Y. flaccida* that we recovered. Hess and Robins (2002) mentioned that *Y. filamentosa* has expanded its range due to its wide cultivation and that this species and *Y. flaccida* are probably the same species. Although they are similar in some morphological characters, *Y. filamentosa* and *Y. flaccida* differ in their habitat, and we therefore agree with Clary (1997) and Ward (2011) that they are two distinct species. Nonetheless, the widespread cultivation of these closely related species along with the evidence of hybridization is a likely explanation for the relationship we observed.

Yucca baccata and *Y. arizonica* also form a highly supported group (PP=0.99). Clary (1997) and W. Hodgson (pers. comm.) consider them as different species; however, Hess and Robins (2002) and Thiede (2020) consider *Y. arizonica* a synonym of *Y. baccata*. The first authors divided *Y. baccata* into two subspecies, *Y. baccata* subsp. *baccata* and *Y. baccata* subsp. *brevifolia*, and synonymized *Y. arizonica* with the latter. The separation of both subspecies is because *Y. baccata* subsp. *baccata* is characterized by mainly acaulescent and less frequently caulescent habit, 1-6 stems, aerial or underground, generally measuring less than 0.3 m, and curly and thick leaf margins, while the *Y. baccata* subsp. *brevifolia* is characterized by 1-24 well-developed aerial stems, frequently branching, and sometimes reaching 2 m high, and its filiferous leaf margins.

A tool that could improve our understanding of the phylogenetic relationships between *Yucca* species is phylogenomics, since it incorporates large data sets in which events such as substitutions, insertions, fissions, gene fusions, deletions, among others, provide information that the use of only a few regions does not provide, especially if the molecular region used does not vary enough to resolve phylogenetic relationships in several taxonomic categories, including at the species level (Yu et al., 2018).

Chloroplast-based phylogeny

The chloroplast DNA within Agavoideae shows little variation or phylogenetic utility at the species level. An example of this is seen in the study carried out by Jiménez-Barrón et al. (2021), who recorded in 3670 bp in four regions of the chloroplast for *Agave* and closely related genera, only 29 variable sites, with only 19 of these being informative. Even with complete chloroplast genome sequences, there is no better resolution among different

groups of Agavoideae where gene duplications have also been documented (McKain et al., 2012).

Yucca is a genus of recent divergence in which diversification has been most active from the last 4 Ma to the present (Smith et al., 2008), with most of its species having ages estimated at just 1 Ma or less. This rapid and recent radiation obscures phylogenetic relationships, especially if the phylogeny is based on cDNA, since due to its uniparental inheritance, the information is more sensitive to the processes of introgression, hybridization, and gene flow, among others. These last two processes in *Yucca* are facilitated by its pollinators. For example, hybridization between geographically close species such as *Y. schidigera* and *Y. baccata* (Hanson, 1993), and relationships with pollinators have been documented in *Yucca*, e.g., *Y. capensis* and *Y. valida* that both are pollinated by *Tegeticula baja* (Arteaga et al., 2020), and even in cultivated *Yuccas* as *Y. aloifolia* and *Y. filamentosa* (Heyduck et al., 2020).

The recovered relationships in this hypothesis could also be associated with biogeographic and climatic events, as according to Althoff et al. (2012), these can cause allopatric divergence in species of *Yucca* and its pollinators as the mutualistic interaction spreads across the landscape. Their results show that within the subclade with dry and fleshy fruits, the *Yucca* species and its known *Tegeticula* pollinators are mainly allopatric.

Divergence times and character evolution

The estimated ages are in general agreement with other related publications, e.g., Good-Ávila et al. (2006) estimated that the *Yucca* stem age is approximately 17.2 Ma. Smith et al. (2008) registered the divergence times of 9.52 Ma for the stem group and 6.41 Ma for the

crown group of *Yucca*, while those obtained by Jiménez-Barrón are 14.2 Ma and 8.52 Ma, respectively. It should be noted that the same fossils were used to calibrate. However, our sampling was broader for *Yucca*, as the studies of Good-Ávila et al. (2006) and Jiménez-Barrón et al. (2021) focused on *Agave*. Smith et al. (2008) stated that the *Yucca* crown group sections diversified rapidly at 4 to 6 Ma, and that the highest rates of lineage formation occurred at 3 to 4 Ma.

According to our results, the ages of the nodes that group the two main subclades range from 6.12 (clade *Rupicola*) to 3.6 Ma (clade *Aloifolia*), and most of the *Yucca* species are of recent divergence, some of them corresponding to taxa that share their distribution. For example, the divergence time between *Y. valida* and *Y. capensis* is only 0.42 Ma, or *Y. guatemalensis* and *Y. lacandonica* separated 0.21 Ma ago, among other species that are geographically close. Diversification events in *Yucca* occurred during the Pliocene-Pleistocene. In the Pliocene, the climate became drier and colder; large areas of forests were replaced by more arid environments, including those of the United States of America and northern Mexico (Metcalf et al., 2000), where *Yuccas* are established more frequently. In the Pleistocene, fluctuations in precipitation, seasonality, and temperature prevailed, and in addition the Trans-Mexican Volcanic Belt presented more intense activity (Metcalf, 2006; Mastretta-Yanes et al., 2015). The divergence times give an idea of how diversification could have occurred in *Yuccas* and, consequently, also of their morphological evolution.

In accordance with the reconstruction of ancestral states, the first *Yucca* plants were caulescent, with leaves with mainly entire margins, inflorescence simple or branched, and dry and dehiscent fruit (Figures 4-7). Fossil evidence found by Tidwell and Parker (1990)

suggests that more than 14 Ma ago *Yucca*-related plants like *Y. brevifolia* were arborescent and had stiff leaves. Today, most species of the genus have conspicuous single or branched stems that vary in height (Thiede, 2020). These characteristics are also present in other Agavoideae, including *Furcraea* and less frequently in *Agave* and *Beschorneria* (García-Mendoza, 2006). It is possible that, as has happened with other plants, the variation in the height and branching of the stems is a response to climatic and orographic changes that have occurred from the Plio-Pleistocene to the present, since such characteristics provide them with physiological resistance to frost and drought and reduce herbivory to a certain extent (Lusk et al., 2016).

The presence of fleshy and dry fruit in one family as well as the shifts from one to the other type occur frequently in angiosperms (Bremer and Eriksson, 1992; Pabón-Mora and Litt, 2011; Wang et al., 2015). For example, the fleshy fruit has originated more than 20 times in monocots and at least eight times in Asparagales (Givnish et al., 2005). This may be due to various factors, from changes in dispersal (Bremer and Erikson, 1992) to gene duplication, which has favored new functions leading to more diversity in the structures of carpels and fruits (Scutt et al., 2006). According to our results, the dry fruit is ancestral in *Yucca*, while the fleshy one evolved afterwards, which agrees with the proposal by other authors (Trelease, 1902; Weber, 1953; Clary, 1997).

With respect to the changes in dispersal where there is a relationship between the fruit type and the disperser, two main patterns have been observed in *Yucca*. In the current species of the genus that have dehiscent capsules (Clade *Rupicola*), the seeds are thin and are dispersed by the wind (Trelease, 1902; Weber, 1953; Dodd & Linhart, 1994), although it has been documented that animals may occasionally intervene (Geluso et al., 2022);

moreover, these are distributed in open environments (Weber, 1953). The species with dry and indehiscent fruit (*Y. brevifolia* and *Y. jaegeriana*), and those with fleshy indehiscent fruits (Clade *Aloifolia*) have thick seeds whose dispersal takes place by animals, mainly rodents (Vander Wall et al., 2016; Waitmann et al., 2012; Borchert, 2016), or even birds and bats (Lenz, 2001). Although most of this group of plants is distributed in xerophytic scrubs and some of them also in open environments, by means of zoochory the distance at which their seeds are moved is close to 100 m (Borchert & DeFalco, 2016).

The characters and character status of the inflorescence within the Agavoideae allowed Gentry (1982) to separate the genus *Agave* into two subgenera: *Littaea*, where he placed species with spikes, and in *Agave* subgenus *Agave* he located taxa with panicles. On the other hand, in *Yucca* the characteristics of the inflorescence have been used to identify species. For example, Matuda and Piña (1980) distinguished *Yucca faxoniana* from *Y. carnerosana* by the length of the floral scape with respect to the foliage and the shape of the panicle. In *Y. faxoniana* the scape protrudes from the crown of leaves and the panicle is broadly conical, while in *Y. carnerosana* the floral axis is covered by the leaves and the panicle is ellipsoidal. Based on the type of inflorescence, Cronquist et al. (1977) separated *Y. baileyi* and *Y. angustissima*, which have flowers arranged in simple clusters, from *Y. elata*, which has panicles. However, the results of this study show that at least the type of branching is not useful to propose any infrageneric classification.

In relation to the leaf margin, this was used by Baker (1880) to classify *Yucca* into three groups: *Serrulatae*, *Integrifoliae* and *Filiferæ*. According to this classification, the species of the first group have leaves whose margin is toothed, in the second it is entire, although in adult leaves, they may be scarcely filiferous, and in juvenile leaves they may be

serrated at the base), and the third presents abundant filaments. Our ancestral character states reconstruction shows that the margin is variable between the clades. It was only observed that in Group III of the *Rupicola* clade all the species have a denticulate margin; in the other clades both leaves with entire and dentate margins are present. Clary (1997) recognized a clade of *Yuccas* with denticulate leaves whose species partially correspond to those of Group III of the present study.

In the *Aloifolia* clade, most of its members have a margin without teeth, the exceptions are *Y. aloifolia*, *Y. gloriosa*, *Y. guatemalensis* and *Y. lacandonica*, which are distributed in environments with higher humidity than the other species of the clade, although also some species that live in arid environments have leaves with teeth such as *Y. linearifolia* and *Y. queretaroensis*. However, in this study we are not relating the type of margin with the environment.

CONCLUSIONS

Due to the recent evolutionary history of the genus at the species level, unanswered questions remain. Especially in those that are phylogenetically related but geographically distant, as well as in those that are sympatric but not closely related.

With respect to the chloroplast regions used, these are little variable and generally lack sufficient resolution and only *Yucca* is recovered as monophyletic but not the sections and series. However, these regions show geographical patterns at the species level, likely reflecting hybridization and obscuring other relationships.

According to our study the fruit type and its dehiscence are consistent with the phylogenetic relationships, while the caulescence and inflorescence type are probably homoplastic. The dry fruit is the ancestral character in *Yucca* and is consistent with the main clades of the phylogeny, the divergence between the species with dry and fleshy fruit could be related to changes in dispersal and climatic events of the Pliocene-Pleistocene and probably to events of gene duplication.

Future work in *Yucca* should include studying the phylogenetic relationships with other genetic markers, as well as biogeography, evolution of the fruit, and inclusion of previously ignored characters such as floral or anatomical ones. Finally, some recently described taxa, such as *Y. pinicola*, *Y. muscipula* and *Y. carrii*, among others, should be included as well.

The characters used for the classification are not necessarily homologous; as shown in many studies morphological characters used in classification instead are homoplastic, such as the ovary position in some monocot families (Rudall, 2022), or the sori in grammitid ferns (Ranker et al., 2004). To determine homologous characters or potentially informative features that have been regarded as having no taxonomic value or have been ignored, we need to use a methodology to codify them and determine the homology of morphological characters as proposed by Tórres-Montúfar et al. (2018).

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author thanks the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología for the scholarship granted to carry out her doctoral studies (registration number: 210602), and Posgrado en Ciencias Biológicas of the Universidad Nacional Autónoma de México for the training

received. This study was financially supported by the Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, DGAPA, UNAM, Contract IN214318, led by the fourth author of this research. We thank especially Karen Clary and the Desert Botanical Garden, Andrew Salywon, Raúl Puente, Wendy Hodgson and Kimberlie McCue. We also thank Ramiro Ríos. We are grateful to the curators of the following herbaria for their loans of material for the DNA study: DES, MEXU, MERCA and HNT, as well as Karen Clary for her personal material.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

M.A.H., S.D.F., and M.S.S. designed and carried out the study. E.S.C. secured funding. M.A.H., A.G.M and E.S.C. did the fieldwork. M.A.H., S.D.F., and R.G.S. prepared the data, and conducted all analyses. M.A.H. and M.S.S wrote the manuscript, and all the authors supervised the draft manuscript.

ORCID

María M. Ayala-Hernández <https://orcid.org/0000-0003-4036-0820>

Shannon D. Fehlberg <https://orcid.org/0000-0002-7386-0832>

Abisaí García-Mendoza <https://orcid.org/0000-0002-0284-5117>

Eloy Solano <https://orcid.org/0000-0001-7742-2584>

Ricardo García-Sandoval <https://orcid.org/0000-0001-8641-3305>

Marie-Stéphanie Samain <https://orcid.org/0000-0002-7530-9024>

REFERENCES

- Baker, J. G. (1880). A Synopsis of *Aloineae* and *Yuccoideae*. *Journal of the Linnean Society of London*, 18(109), 148-241. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1880.tb00649.x>
- Baldwin, B. G., & Markos, S. (1998). Phylogenetic Utility of the External Transcribed Spacer (ETS) of 18S-26S rDNA: Congruence of ETS and ITS Trees of *Calycadenia* (Compositae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 10(3), 449-463. <https://doi.org/10.1006/mpev.1998.0545>
- Bogler, D. J., & Simpson, B. B. (1995). A Chloroplast DNA Study of the Agavaceae. *Systematic Botany*, 20(2), 191-205. <https://doi.org/10.2307/2419449>
- Bogler, D. J., & Simpson, B. B. (1996). Phylogeny of Agavaceae Based on ITS rDNA Sequence Variation. *American Journal of Botany*, 83(9), 1225-1235. <https://doi.org/10.2307/2446206>
- Bogler, D., Pires, C., & Francisco-Ortega, J. (2006). Phylogeny of Agavaceae based on *ndhF*, *rbcL*, and ITS sequences. *Aliso*, 22(1), 313-328. <https://doi.org/10.5642/aliso.20062201.26>
- Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, C. H., Xie, D., Suchard, M. A., Rambaut, A., & Drummond, A. J. (2014). BEAST 2: A software platform for bayesian evolutionary analysis. *PLoS Computational Biology*, 10(4), e1003537. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537>

Bremer, B., & Ericksson, O. (1992). Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. *Biological Journal of the Linnean Society*, 47(1), 79-95. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1992.tb00657.x>

Caballero, V. A. (2022). *Modelación del nicho ecológico de Yucca (Asparagaceae, Agavoideae) para evaluar categorías de riesgo*. Tesis para obtener el título de Biólogo. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.

Clary, K. H. (1995). *Yucca linearifolia* (Agavaceae): A new, indehiscent, fleshy-fruited, linear-leaved species endemic to the Chihuahuan Desert, Mexico. *Brittonia*, 47(4), 394-396. <https://doi.org/10.2307/2807567>

Clary, K. H., & Simpson, B. B. (1995). Sistemática y evolución del género *Yucca* (Agavaceae): evidencias de análisis morfológicos y moleculares. *Botanical Sciences*, 56, 77-88. <https://doi.org/10.17129/botsci.1466>

Clary, K. (1997). *Phylogeny, character evolution, and biogeography of Yucca L. (Agavaceae) as inferred from plant morphology and sequences of the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of the nuclear ribosomal DNA*. Ph.D. Dissertation. University of Texas, Austin, Texas.

Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>

Downie, S. R., & Katz-Downie, D. S. (1999). Phylogenetic analysis of chloroplast rps16 intron sequences reveals relationships within the woody southern African Apiaceae subfamily Apioideae. *Canadian Journal of Botany*, 77, 1120-1135.

<https://doi.org/10.1139/b99-086>

Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792-1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>

Engelmann, G. (1871). *Yucca and Hesperaloe*. Watson's Botany of the Fortieth Parallel. Report of the United States Geological Exploration of the Fortieth Parallel, Clarence King, Geologist in Charge. (V. Supplement: 496-497).

Engelmann, G. (1873). Notes on the Genus *Yucca*. *Transactions of the Academy of Science of St. Louis*, 3, 17-54.

Flores-Abreu, I., Trejo-Salazar, R., Sánchez-Reyes, L., Good, S., Magallón, S., García-Mendoza, A., & Eguiarte, L. (2019). Tempo and mode in coevolution of *Agave sensu lato* (Agavoideae, Asparagaceae) and its bat pollinators, Glossophaginae (Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 133, 176-188.

<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.01.004>

Geluso, K., Longo, P. J., Harner, M. J., & White, J. T. (2021). Incomplete recovery of seeds from scatterhoards by granivorous rodents: Implications for plant establishment. *Ecology and Evolution*, 12(1), e8523. <https://doi.org/10.1002/ece3.8523>

Geneious Prime versión 2020.2.4 Bioinformatics Software for Sequence Data Analysis (<http://www.geneious.com>)

- Gentry, H. S. (1982). *Agaves of Continental North America*. University of Arizona.
- Good-Avila, S. V., Souza, V., Gaut, B. S., & Eguiarte, L. E. (2006). Timing and rate of speciation in Agave (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(24), 9124-9129. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603312103>
- Halpin, K. M., & Fishbein, M. (2013). A Chloroplast Phylogeny of Agavaceae Subfamily Chlorogaloideae: Implications for the Tempo of Evolution on Serpentine Soils. *Systematic Botany*, *38*(4), 996-1011. <https://doi.org/10.1600/036364413x674850>
- Hanson, M. A. (1993). *Dispersed unidirectional introgression from Yucca schidigera into Y. baccata (Agavaceae)*. PhD. Dissertation. The Claremont Graduate School, California.
- Harrington, S. M., & Reeder, T. W. (2017). Phylogenetic inference and divergence dating of snakes using molecules, morphology and fossils: new insights into convergent evolution of feeding morphology and limb reduction. *Biological Journal of the Linnean Society*, *121*(2), 379-394. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blw039>
- Helfrich, P., Rieb, E., Abrami, G., Lücking, A., & Mehler, A. (2018). “TreeAnnotator: versatile visual annotation of hierarchical text relations,”. In *Proceedings of the Eleventh International Conference on Language Resources and Evaluation (LREC 2018)*.
- Hess, W. H., & Robins, L. (1996). *Yucca*. In Flora of North America Editorial Committee, (Eds.), *Flora of North America* (Vol. 26, pp. 423-440). Retrieved from <http://www.efloras.org/florataxon.aspx>
- Heyduk, K., McAssey, E. V., Grimwood, J., Shu, S., Schmutz, J., McKain, M. R., & Leebens-Mack, J. (2021). Hybridization History and Repetitive Element Content in the

Genome of a Homoploid Hybrid, *Yucca gloriosa* (Asparagaceae). *Frontiers in Plant Science*, 11, 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573767>

Hurlburt, D. D. (2004). *Persistence of the Yucca mutualism at the northern edge of range*. PhD. Dissertation. University of Alberta.

IUCN, 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-3. <https://www.iucnredlist.org>. Accessed on [11 march 2021].

Janzen, D. H. (1986). Chihuahuan desert nopaleras: defaunated big mammal vegetation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1), 595-636. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.17.110186.003115>

Jiménez-Barrón, O., García-Sandoval, R., Magallón, S., García-Mendoza, A., Nieto-Sotelo, J., Aguirre-Planter, E., & Eguiarte, L. E. (2020). Phylogeny, Diversification Rate, and Divergence Time of *Agave sensu lato* (Asparagaceae), a Group of Recent Origin in the Process of Diversification. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1-17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.536135>

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

Lenz, L. (1998). *Yucca capensis* (Agavaceae, Yuccoideae), a new species from Baja California Sur, Mexico. *Cactus and Succulent Journal*, 70, 289-296.

Lenz, L., & Hanson, M. (2000). Typification and Change in Status of *Yucca Schottii* (Agavaceae). *Aliso*, 19(1), 93-98. <https://doi.org/10.5642/aliso.20001901.07>

- Locklear, J. (2017). Endemic plants of the Central Grassland of North America: distribution, ecology, and conservation status. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 11(1), 193-234.
- Lusk, C. H., McGlone, M. S., & Overton, J. M. (2016). Climate predicts the proportion of divaricate plant species in New Zealand arborescent assemblages. *Journal of Biogeography*, 43(9), 1881-1892. <https://doi.org/10.1111/jbi.12814>
- Magallán Hernández, F., Maruri-Aguilar, B., Sánchez Martínez, E., Hernández-Sandoval, L., & Luna-Zúñiga, J. (2014). Consideraciones taxonómicas de *Yucca queretaroensis* Piña (Agavaceae), una especie endémica del Semidesierto Queretano-Hidalguense. *Acta Botanica Mexicana*, 16(108), 51-66.
- Markos, S., & Baldwin, B. G. (2001). Higher-Level Relationships and Major Lineages of *Lessingia* (Compositae, Astereae) Based on Nuclear rDNA Internal and External Transcribed Spacer (ITS and ETS) Sequences. *Systematic Botany*, 26(1), 168-183. <https://doi.org/10.1043/0363-6445-26.1.168>
- Mastretta-Yanes, A., Moreno-Letelier, A., Piñero, D., Jorgensen, T. H., & Emerson, B. C. (2015). Biodiversity in the Mexican highlands and the interaction of geology, geography and climate within the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Journal of Biogeography*, 42(9), 1586-1600. <https://doi.org/10.1111/jbi.12546>
- Matuda, E., y Piña Luján, I. (1980). Las plantas mexicanas del género *Yucca*. Serie Fernando de Alva Ixtlilxóchitl. Miscelánea del Estado de México. Toluca, Estado de México, México.

McKain, M. R., McNeal, J. R., Kellar, P. R., Eguiarte, L. E., Pires, J. C., & Leebens-Mack, J. (2016). Timing of rapid diversification and convergent origins of active pollination within Agavoideae (Asparagaceae). *American Journal of Botany*, *103*(10), 1717-1729. <https://doi.org/10.3732/ajb.1600198>

McKelvey, S. D. (1938). *Yuccas of the Southwestern United States, parts 1*. Arnold Arboretum, Jamaica Plain.

McKelvey, S. D. (1947). *Yuccas of the Southwestern United States, parts 2*. Arnold Arboretum, Jamaica Plain.

Metcalf, S. E., O'Hara, S. L., Caballero, M. & Davies, S. J. (2000). Records of Late Pleistocene-Holocene climatic change in Mexico - a review. *Quaternary Science Reviews*, *19*(7), 699-721.

Metcalf, S. E. (2006). Late Quaternary environments of the northern deserts and central Transvolcanic Belt of Mexico. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *93*(2), 258-273.

Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). "Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees". In *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop*, New Orleans, LA, 1-8.

Njuguna, W., Liston, A., Cronn, R., Ashman, T. L., & Bassil, N. (2013). Insights into phylogeny, sex function and age of *Fragaria* based on whole chloroplast genome sequencing. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *66*(1), 17-29. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.08.026>

- Olson, M. E. (2002). Combining Data from DNA Sequences and Morphology for a Phylogeny of Moringaceae (Brassicales). *Systematic Botany*, 27(1), 55-73.
<https://doi.org/10.1043/0363-6445-27.1.55>
- Okonechnikov, K., Golosova, O., & Fursov, M. (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28(8), 1166-1167.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Torres-Montúfar, A., Borsch, T. & Ochoterena, H. (2018). When Homoplasy Is Not Homoplasy: Dissecting Trait Evolution by Contrasting Composite and Reductive Coding. *Systematic Biology*, 67(3),543-551. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syx053>
- Pabón-Mora, N., & Litt, A. (2011). Comparative anatomical and developmental analysis of dry and fleshy fruits of Solanaceae. *American Journal of Botany*, 98(9):1415-36.
<https://doi.org/10.3732/ajb.1100097>
- Pagel, M., Meade, A., & Barker, D. (2004). Bayesian estimation of ancestral character states on phylogenies. *Systematic Biology*, 53(5), 673-684. [https://doi: 10.1080/10635150490522232](https://doi:10.1080/10635150490522232)
- Pellmyr, O., Segraves, K. A., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M., & Leebens-Mack, J. (2007). The phylogeny of *Yuccas*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2), 493-501.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.12.015>
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M. A. (2018). Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67(5), 901-904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>

- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rocha, M., Good-Ávila, S., Molina-Freaner, F., Arita, H., Castillo, A., García-Mendoza, A., Silva-Montellano, A., Gaut, B., Souza, V., & Eguiarte, L. E. (2006). Pollination Biology and Adaptive Radiation of Agavaceae, with Special Emphasis on the Genus *Agave*. *Aliso*, 22(1), 329-344. <https://doi.org/10.5642/aliso.20062201.27>
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Sang, T., Crawford, D. J., & Stuessy, T. F. (1997). Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, 84(9), 1120-1136. <https://doi.org/10.2307/2446155>
- 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. *American Journal of Botany*, 94(3): 275-288. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>
- Smith, C. I., Pellmyr, O., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M., Leebens-Mack, J., & Segraves, K. A. (2008). Pattern and timing of diversification in *Yucca* (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1632), 249-258. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1405>

Speirs, D. C. (1979). *Yucca glauca* (Agavaceae) in Webstern Canada. *The National Cactus and Succulent Journal*, 34(3), 59.

Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313.

<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>

Stevens, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]." will do.

[http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb /](http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/).

Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., & Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17(5), 1105-1109. <https://doi.org/10.1007/bf00037152>

Tate, J. A., & Simpson, B. B. (2003). Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and diverse origins of the polyploid species. *Systematic Botany*, 28(4), 723-737. <https://doi.org/10.1043/02-64.1>

The Plant List. 2013. Version 1.1. Website <http://www.theplantlist.org/> [accessed 22 Feb 2021].

Thiede, J. (2020). *Yucca*, AGAVACEAE. In *Monocotyledons. Illustrated Handbook of Succulent Plants*, eds. U. Egli & R. Nyffeler (Springer, Berlin, Heidelberg), 363-421.

https://doi.org/10.1007/978-3-662-56486-8_109. ISBN 978-3-662-56484-4

Tidwell, W. D., & Parker, L. D. (1990). *Protoyucca shadishii* gen. et sp. nov., An arborescent monocotyledon with secondary growth from the Middle Miocene of

Northwestern Nevada, U.S.A. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 62(1-2), 79-95.

[https://doi.org/10.1016/0034-6667\(90\)90018-e](https://doi.org/10.1016/0034-6667(90)90018-e)

Trelease, W. (1902). The Yuceae. *Missouri Botanical Garden Annual Report, 1902*, 27-133. <https://doi.org/10.2307/2400121>

Trelease, W. (1907). Additions to the Genus *Yucca*. *Missouri Botanical Garden Annual Report, 18*, 225-230. doi:10.2307/2400028

Vander-Wall, S. B., Esque, T., Haines, D., Garnett, M., & Waitman, B. A. (2006). Joshua tree (*Yucca brevifolia*) seeds are dispersed by seed-caching rodents. *Ecoscience*, 13(4), 539-543.

Waitman, B., Vander-Wall, S., & Esque, T. (2012). Seed dispersal and seed fate in Joshua tree (*Yucca brevifolia*). *Journal of Arid Environments*, 81, 1-8.

<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2011.12.012>

Wang, L., Li, J., Zhao, J., & He, C. (2015). Evolutionary developmental genetics of fruit morphological variation within the Solanaceae. *Frontiers in Plant Science* 6, 248.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00248>

Ward, D. B. (2011). *Yucca filamentosa* and *Yucca flaccida* (Agavaceae) are Distinct Taxa in their Type Localities. *Castanea*, 76(2), 222-228. <https://doi.org/10.2179/10-017.1>

Weber, J. M. *Yucas of the southwest*. Agriculture Monograph No. 17. United States Department of Agriculture.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky

& T. J. White (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322).
San Diego, CA: Academic Pr. hlm. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>

Wysocki, W. P., Clark, L. G., Attigala, L., Ruiz-Sanchez, E., & Duvall, M. R. (2015).
Evolution of the bamboos (Bambusoideae; Poaceae): a full plastome phylogenomic
analysis. *BMC Evolutionary Biology*, *15*(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0321>

Appendix 1. Taxa used in molecular analysis.

Name	Field origin	Garden accession number	Voucher herbarium	Section, Serie	ITS	Chloroplast
<i>Dasyilirion longissimum</i> Lem.	Mexico, Querétaro	-	Ríos 1857 (FEZA)	Outgroup	P	X
<i>Agave parryi</i> Engelm.	Mexico, Sonora	1988-0084 DBG Living collection	Hodgson 4933 (DES)	Outgroup	P	X
<i>Agave schottii</i> Engelm.	USA, Arizona	1985-0923 DBG Living collection	Quirk w/n	Outgroup	P	X
<i>Beaucarnea recurvata</i> Lem.	Mexico, Tamaulipas	-	Solano 4967 (FEZA)	Outgroup	X	P
<i>Beschorneria</i> sp.	Mexico, Hidalgo	-	Solano w/n	Outgroup	P	P
<i>Hesperalöe campanulata</i> G.D. Starr	Mexico, Nuevo León	2004 0159 01 DBG Living collection	Ayala w/n (DES)	Outgroup	P	X
<i>Hesperalöe nocturna</i> Gentry	Mexico, Sonora	1964 7619 02 DBG Living collection	Ayala w/n (DES)	Outgroup	P	X
<i>Hesperoyucca whipplei</i> (Torr.) Baker ex Trel.	Mexico, Baja California	-	1848 RRG (FEZA)	Outgroup	P	P
<i>Hesperoyucca peninsularis</i> (McKelvey) Clary	Mexico, Baja California	2007 0269 10 DBG Living collection	Mesa Garden (DES)	Outgroup	P	P

<i>Yucca aloifolia</i> L.	Mexico, Veracruz	-	Solano 5639 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	X
<i>Yucca angustissima</i> Engelm. ex. Trel.	USA, Arizona	-	Hodgson 31944 (DES)	<i>Chaenocarpa</i> , <i>Elatae</i>	P	P
<i>Yucca arizonica</i> McKelvey	USA, Arizona	-	Hodgson 31614 (DES)	<i>Yucca</i> , <i>Baccatae</i>	P	X
<i>Yucca baccata</i> Torr.	USA, Arizona	-	Ayala 1410 (DES)	<i>Yucca</i> , <i>Baccatae</i>	P	P
<i>Yucca baileyi</i> Wooton & Standl.	USA, Arizona	2008 0111 10 DBG Living collection	Ward 348B (DES)	<i>Chaenocarpa</i> , <i>Elatae</i>	P	P
<i>Yucca brevifolia</i> Engelm.	USA, Arizona	1940 0478 02 DBG Living collection	Ayala w/n (DES)	<i>Clistocarpa</i>	P	P
<i>Yucca campestris</i> McKelvey	USA, Texas	1990 0335 10 DBG Living collection	Mielke w/n	<i>Chaenocarpa</i> , <i>Glaucæ</i>	X	P
<i>Yucca capensis</i> L.W. Lenz	Mexico, Baja California Sur	93401 HNT	Lenz 9302 (HNT)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca carnerosana</i> (Trel.) McKelvey	Mexico, San Luis Potosí	-	Ríos 1868 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Faxoniana</i>	P	P
<i>Yucca cernua</i> E.L. Keith	USA, Texas	2007 0269 01 MERCA	Clary 438, 439	<i>Chaenocarpa</i> , <i>Rupicola</i>	P	X

<i>Yucca coahuilensis</i> Matuda y Piña	Mexico, Coahuila	-	Ríos 1880 (FEZA)	<i>Chaenocarpa, Glaucae</i>	P	P
<i>Yucca decipiens</i> Trel.	Mexico, San Luis Potosí,	-	Ríos 1901 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca declinata</i> Laferr.	Not of a wild source. Arid Lands Greenhouse	2018 0807 01 DBG Living collection	Ayala w/n (DES)	<i>Yucca, Baccatae</i>	P	X
<i>Yucca faxoniana</i> Sarg.	USA, Texas	1995 0094 101 DBG Living collection	Hodgson 9024 (ARIZ)	<i>Yucca, Faxonianae</i>	P	P
<i>Yucca filifera</i> Chabaud	Mexico, San Luis Potosí		Ríos 1858 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca flaccida</i> Haw.	Not of a wild source, Rare Palm Seeds	2019 0007 10 DBG Living collection	Ayala w/n (DES)	<i>Chaenocarpa, Arkansanae</i>	P	X
<i>Yucca glauca</i> Nutt.	Not of a wild source. Provided by Ron Gass.	2018 0475 012 DBG Living collection	Ayala w/n (DES)	<i>Chaenocarpa, Glaucae</i>	P	P
<i>Yucca gloriosa</i> L.	USA, Mississippi	2015 0696 01 DBG Living collection	Majure 5908 (DES)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P

<i>Yucca grandiflora</i> Gentry	Mexico, Sonora	2005 0326 10 DBG Living collection	Puente 3520- B	<i>Yucca,</i> <i>Baccatae</i>	X	P
<i>Yucca guatemalensis</i> Baker	Mexico, Oaxaca	-	Solano 5637 (FEZA)	<i>Yucca,</i> <i>Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca harrimaniae</i> Trel.	USA, Utah	-	Hodgson 28583 (DES)	<i>Chaenocarpa,</i> <i>Harrimaniae</i>	P	P
<i>Yucca intermedia</i> McKelvey	USA, New Mexico	-	Clary 142, 148 (DES)	<i>Chaenocarpa,</i> <i>Elatae</i>	P	P
<i>Yucca jaegeriana</i> (McKelvey) L.W. Lenz	USA, Arizona	-	Hodgson 11008 (DES)	<i>Clistocarpa</i>	P	P
<i>Yucca jaliscensis</i> (Trel.) Trel.	Mexico, Estado de México	-	García- Mendoza 6582 (MEXU)	<i>Yucca,</i> <i>Treculeanae</i>	P	X
<i>Yucca kanabensis</i> McKelvey	USA, Utah	-	Hodgson 31984 (DES)	<i>Chaenocarpa,</i> <i>Glaucuae</i>	P	X

<i>Yucca lacandonica</i> Gómez Pompa & J. Valdés	Mexico, Oaxaca	-	Ríos 1869 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca linearifolia</i> Clary	Mexico, Nuevo León	-	Ríos 1870 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca madrensis</i> Gentry	Mexico, Sonora	-	Solano 5604 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca mixtecana</i> García-Mend.	Mexico, Oaxaca	-	Solano 5586 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca necopina</i> Shinnery	USA, Texas	2015 0437 11 MERCA	Clary 319	<i>Chaenocarpa, Arkansanae</i>	X	P
<i>Yucca pallida</i> McKelvey	Not of a wild source. Provided by nursery	2014 0234 01 DBG Living collection	Ayala w/n	<i>Chaenocarpa, Rupicolae</i>	P	X
<i>Yucca periculosa</i> Baker	Mexico, Puebla	-	Solano 5635 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	X	P
<i>Yucca potosina</i> Rzed.	Mexico, San Luis Potosí	-	Solano 4962 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca queretaroensis</i> Piña	Mexico, Querétaro	-	Ríos 1855 (FEZA)	<i>Yucca, Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca reverchonii</i> Trel.	Mexico, Coahuila	-	Ríos 1884 (FEZA)	<i>Chaenocarpa, Rupicolae</i>	P	P
<i>Yucca rigida</i> (Engelm.) Trel.	Mexico, Durango	-	Solano 5609 (FEZA)	<i>Chaenocarpa, Rupicolae</i>	P	P
<i>Yucca rostrata</i> Engelm. Ex. Trel.	Mexico, Coahuila	-	Ríos 1883 (FEZA)	<i>Chaenocarpa, Rupicolae</i>	P	P

<i>Yucca rupicola</i> Scheele	Not of a wild source. Provided by nursery	2019 0257 01 DBG Living collection	Ayala w/n	<i>Chaenocarpa</i> , <i>Rupicolae</i>	P	P
<i>Yucca schidigera</i> Ortgies	Mexico, Baja California	-	Ríos 1850 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca schottii</i> Engelm.	Mexico, Sonora	-	Solano 5608 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	X
<i>Yucca</i> sp. Chihuahua	Mexico, Chihuahua	-	Solano 5600 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca</i> sp. Guerrero	Mexico, Guerrero	-	Ríos 1912 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	X
<i>Yucca thompsoniana</i> Trel.	Mexico, Chihuahua	-	Solano w/n	<i>Chaenocarpa</i> , <i>Rupicolae</i>	P	P
<i>Yucca torreyi</i> Shafer	Mexico, Tamaulipas	-	Solano 4966 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca treculeana</i> Carrière	USA, Texas	1990 0456 012 DBG Living collection	Ayala w/n	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca utahensis</i> McKelvey	USA, Arizona	-	Hodgson 31911 (DES)	<i>Chaenocarpa</i> , <i>Elatae</i>	P	P
<i>Yucca valida</i> Brandegees	Mexico, Baja California Sur	-	Ríos 1836 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	P	P
<i>Yucca periculosa</i> Baker	Mexico, Puebla	-	Solano 5635 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Treculeanae</i>	X	P
<i>Yucca</i> sp. Coahuila	Mexico, Coahuila	-	Ríos 1877 (FEZA)	<i>Yucca</i> , <i>Chaenocarpa</i>	P	P

Note. Herbaria acronyms were cited according to Thiers 2023, Index Herbariorum. DBG= Desert Botanical Garden, HNT: Huntington Botanical Gardens Herbarium (HNT), MERCA: Mercer Botanic Gardens. P=sequence used for phylogeny, X=sequence did not work; w/n=without number.

Appendix 2. Morphological characters evaluated in the reconstruction of ancestral character states.

Morphological character	Matrix code
Fruit	Dry= 0, fleshy= 1
Fruit dehiscence	Dehiscent= 0, indehiscent= 1
Architecture	Acaulescent or mainly acaulescent= 0 Caulescent or mainly caulescent= 1
Leaf margin	Mainly entire= 0 Mainly denticulate= 1
Inflorescence type	Spike= 0, Raceme or panicle= 1

Supplementary material

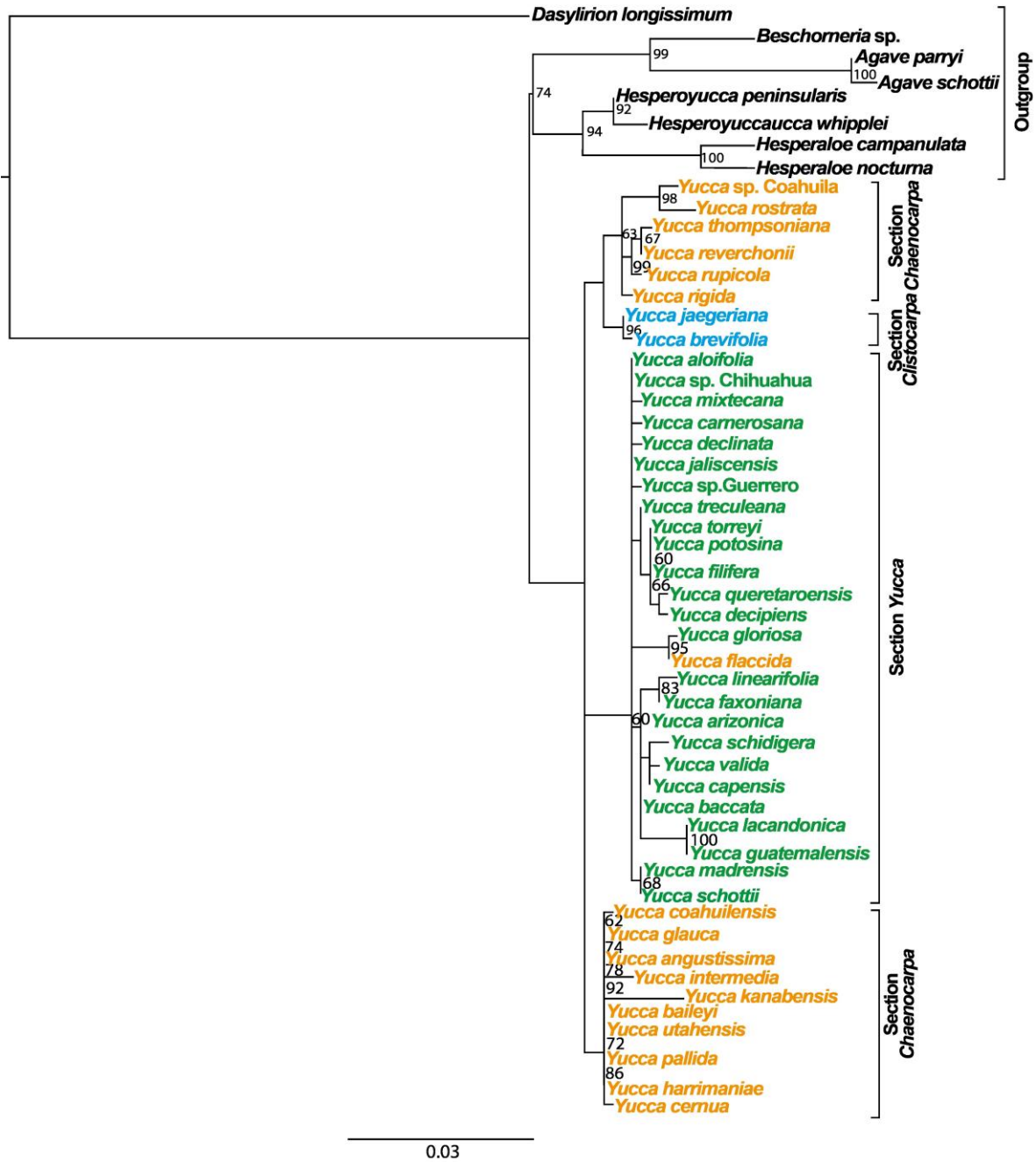


Figure S1. ITS phylogeny inferred through Maximum Likelihood analysis, the numbers close to the nodes indicate the bootstrap values, only those equal to or greater than 60 are shown.

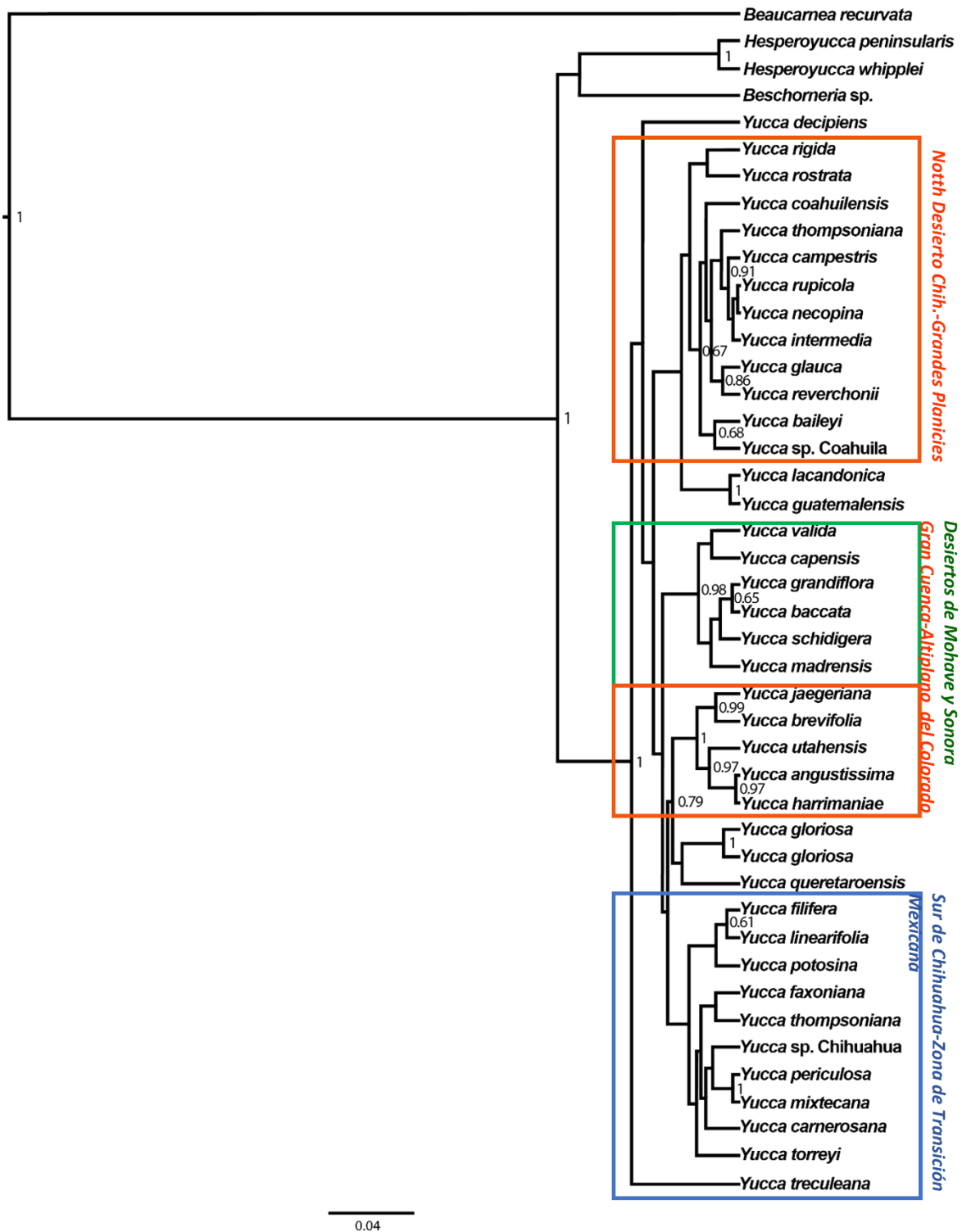


Figure S2. Chloroplast phylogeny inferred through Bayesian Likelihood analysis, the numbers close to the nodes indicate the posterior values, only those equal to or greater than 60 are shown. The rectangles indicate the geographical area occupied by the species.

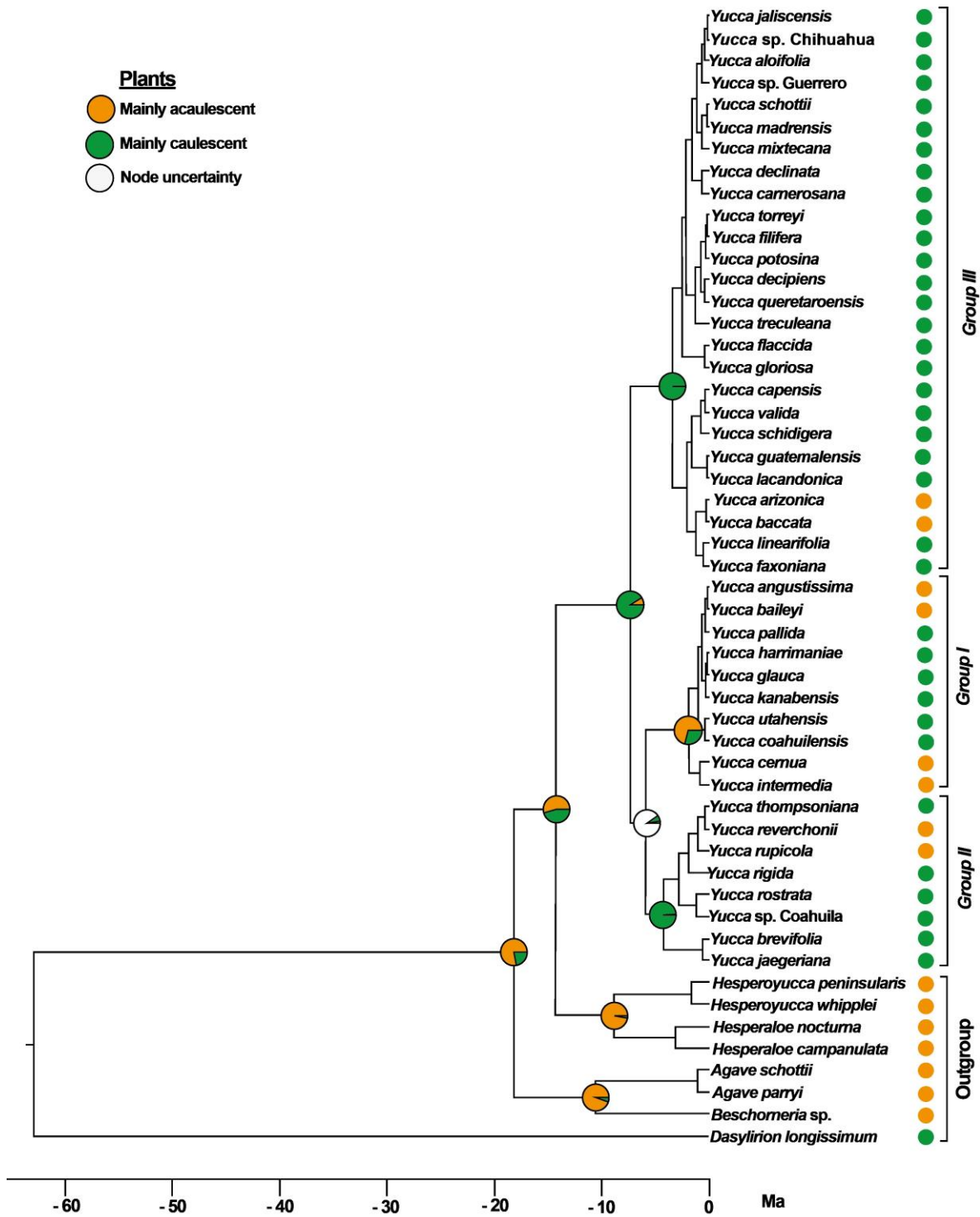


Figure S3. Ancestral state reconstruction of the caulescence indicated on the tree of maximum clade credibility obtained by Bayesian Inference in BEAST. The circles indicate the probability of the caulescence type at each node.

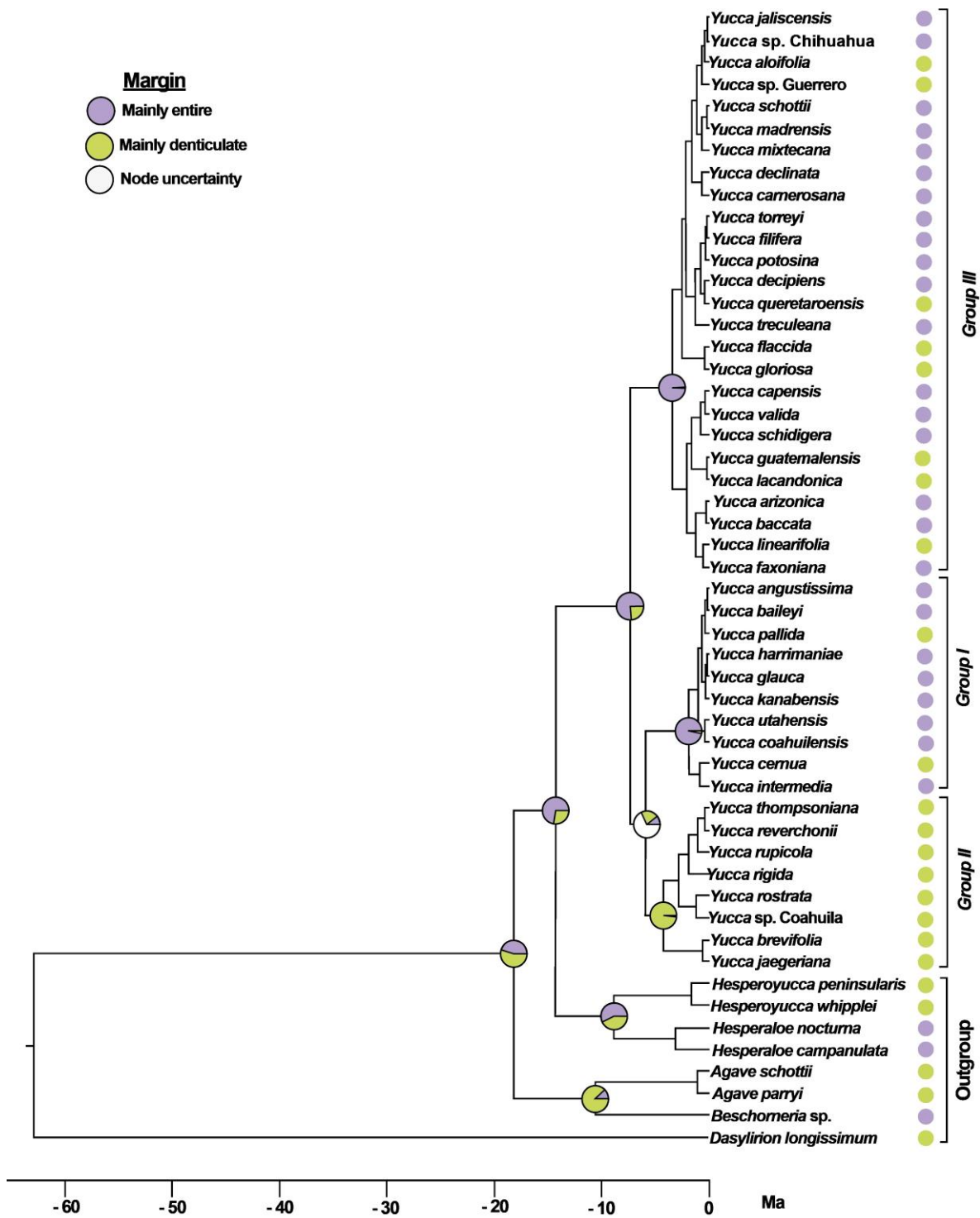


Figure S4. Ancestral state reconstruction of the leaf margins indicated on the tree of maximum clade credibility obtained by Bayesian Inference in BEAST. The circles indicate the probability of the margin leaf type at each node.

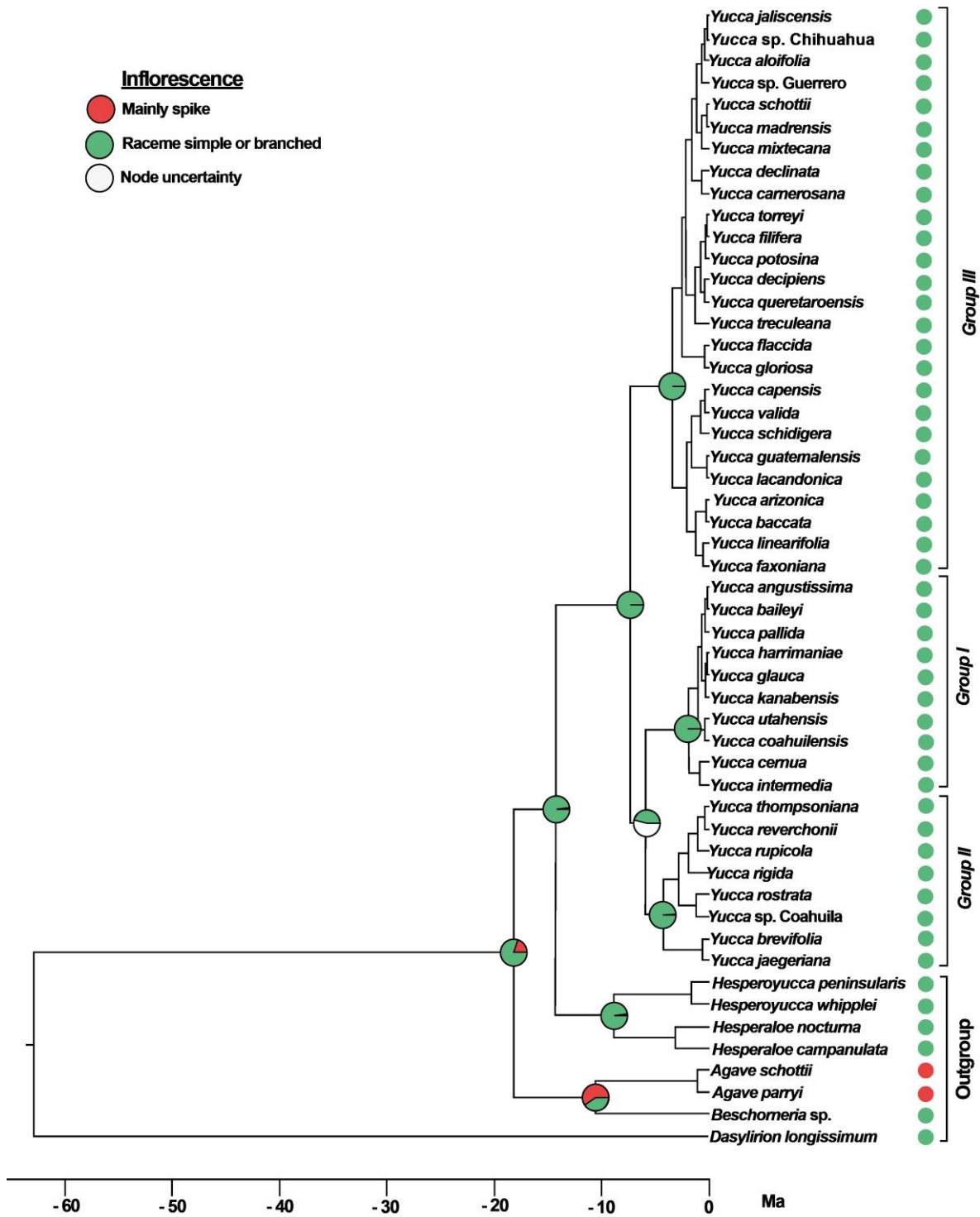


Figure S5. Ancestral state reconstruction of the inflorescence indicated on the tree of maximum clade credibility obtained by Bayesian Inference in BEAST. The circles indicate the probability of the inflorescence type at each node.

Table S1. Evolution models of each analyzed region of the chloroplast.

Region	Model	BIC Value	AIC Value
<i>psbA-trnH</i>	TIM2+I	3420.2435	2913.7836
<i>rpl32-trnL</i>	TPM3	5138.355	4739.4203
exon <i>rps16</i>	TPM1f	4545.3136	3960.9974

CAPÍTULO II

ANATOMÍA FOLIAR COMPARATIVA EN ALGUNOS COMPLEJOS DE ESPECIES DE YUCCA L. (AGAVOIDEAE/ASPARAGACEAE)

Este artículo será enviado a *Botanical Sciences*.

**Anatomía foliar comparativa en algunos complejos de especies de *Yucca* L.
(Agavoideae/Asparagaceae)**

María Magdalena Ayala-Hernández^{1*}, Kevin Lara-Galicia¹, Itzel Juárez- Arias¹, Héctor Serrano-Casas¹, Eloy Solano¹, Andrea Verde-Herrera¹, Ana Soriano-Martínez¹, y Gilberto Alemán-Sancheschúlz¹

¹Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Unidad en Sistemática Vegetal y Suelo

* Autor para la correspondencia: airamagay@yahoo.com.mx

Resumen

Se analizó la anatomía foliar de algunos complejos de especies de *Yucca* para evaluar su utilidad en la delimitación taxonómica. Los complejos analizados fueron: *Y. capensis*-*Y. valida*, *Y. elata*-*Y. verdiensis*, *Y. filifera*-*Y. potosina*, *Y. madrensis*-*Y. schottii* y *Y. torreyi*-*Y. treculeana*. Las características anatómicas evaluadas son variables entre las especies. Existe potencial en los caracteres anatómicos en la evaluación taxonómica del género.

• **Key results:** La anatomía foliar resultó útil en la delimitación de especies. Se registraron diferencias significativas en la mayoría de los caracteres para todos y cada uno de los complejos de especies. Asimismo, de cada complejo, una de las especies presentó valores más altos que la otra. El complejo de *Y. torreyi*-*Y. treculeana* presentó menos diferencias que los otros pares de especies.

Abstract: Leaf anatomy of *Yucca* species complexes were analyzed to assess their usefulness in taxonomic delimitation. The complexes analyzed were: *Y. capensis*-*Y. valida*, *Y. elata*-*Y. verdiensis*, *Y. filifera*-*Y. potosina*, *Y. madrensis*-*Y. schottii* and *Y. torreyi*-*Y. treculeana*. The anatomical characteristics evaluated are variable between species. There is potential in the anatomical characters in the taxonomic evaluation of the genus.

Palabras clave: *Yucca*, delimitación taxonómica, anatomía de hoja, complejos de especies.

Introducción

Yucca L. forma parte del clado ABK de la subfamilia Agavoideae ubicada en Asparagaceae, una de las familias de monocotiledóneas con alta representatividad en América y cuya taxonomía ha cambiado constantemente, en particular desde que se comenzó a utilizar evidencia molecular (Stevens, 2001; McKein et al., 2012; APG III, 2009; APG IV, 2016). Este género está conformado por 52 especies (POWO, 2023), todas son nativas del continente americano (Trelease, 1902).

Las yucas o “izotes” son plantas fáciles de reconocer morfológicamente a nivel genérico, no obstante, a nivel específico existen complejos de especies con caracteres morfológicos similares (Weber, 1953; McKelvey, 1938, 1947; Reveal, 1977; Robins, 1983). Dentro de los complejos hay autores que consideran a las especies que los integran como taxones separados, y otros botánicos organizan esa variación morfológica circunscribiéndola en variedades o subespecies. Lo anterior dificulta su delimitación taxonómica, especialmente en aquellas cuya distribución se traslapa con la de otras yucas (Starr et al., 2012; Plaza, 2021). Algunos de estos complejos son: *Y. capensis*-*Y. valida*; *Y. elata*-*Y. verdiensis*, *Y. filifera*-*Y. potosina*, *Y. madrensis*-*Y. schotti*, *Y. treculeana* y *Y. torreyi*, *Y. arizonica*-*Y. baccata*, *Y. angustissima*-*Y. kanabensis*-*Y. utahensis*, *Y. harrimaniae*-*Y. nana*, *Y. declinata*-*Y. grandiflora*, entre otros (Weber, 1953; Reveal, 1977; Robins, 1983; Hess y Robins, 1996; Lenz y Hanson, 2000).

Para delimitar algunas especies de *Yucca* se han estudiado sus características morfológicas (Robins, 1983), del hábitat (Ward, 2012), moleculares (Plaza, 2021; Royer et

al., 2016) y anatómicas (Heyduk, 2016; 2020). La anatomía vegetal varía en función del grupo taxonómico y el órgano estudiado, a partir de los caracteres registrados es posible evaluarlos y realizar comparaciones entre los organismos analizados (Thadeo et al., 2014; Taia, 2020). En las hojas los caracteres anatómicos presentan variaciones (Metcalf y Chalk, 1950; 1979), las cuales aportan información cualitativa o cuantitativa que puede ser examinada y evaluar su utilidad taxonómica (Metcalf y Chalk, 1950; Dickinson, 2000; Firetti-Leggieri et al., 2014).

En el clado ABK la evidencia anatómica, entre ella la de las hojas, ha apoyado la delimitación en el nivel genérico (Blunden y Jewers, 1973; Álvarez, 1985; 1990), y también en el específico, como ha sido señalado en *Agave* (Gentry y Sauck, 1978; Webb y Starr, 2015), *Beschorneria* (García-Mendoza, 1987), *Furcraea* (Murillo-Serna, et al., 2018), *Manfreda* (Solano et al., 2017) y *Polianthes* (Solano et al., 2013).

La anatomía foliar de *Yucca* ha sido investigada con más detalle en algunas de sus especies como *Y. campestris* (Eagan, 1969), *Y. brevifolia* (Simpson, 1975), *Y. glauca* (Blunden y Bins, 1970), *Y. aloifolia*, *Y. flaccida* y *Y. gloriosa* (Heyduk, et al., 2016; 2021). de ésta última también se han descrito las características anatómicas de sus flores (Patil y Pai, 2006). En otros trabajos, las especies del género han sido estudiadas simultáneamente con algunas de Agavoideae. Por ejemplo, Álvarez (1990) examinó la epidermis adulta en 53 especies de Agavaceae sensu Takhtajan (1980). En su investigación observó que la epidermis foliar de *Yucca* exhibe varios patrones estomáticos y que está conformada por células epidérmicas isodiamétricas, presenta papilas y abundantes capas cuticulares.

Roux-López (1964), Wattendorf (1976), McLaughlin y Schuck (1991), y Verhoek-Williams (1998) señalaron algunas diferencias anatómicas en las hojas de *Agave*, *Beschorneria* y *Yucca*. Por ejemplo, *Yucca* tiene rafidios con cuatro caras y cámaras subestomáticas protegidas por seis labios. En *Agave* los rafidios poseen seis caras y sus cámaras presentan de cuatro a 15 labios. Esta última característica también se observó en *Beschorneria*. A su vez, *Agave* y *Yucca* poseen una vaina de parénquima rodeando a los haces vasculares, misma que está ausente en *Beschorneria*.

Sánchez-Manzo (2020) analizó con microscopía confocal láser de barrido la cutícula y la epidermis foliar de 26 especies de *Yucca*, para determinar caracteres útiles en su delimitación. De acuerdo con sus resultados, el tipo de estomas, el relieve y la ornamentación de la cutícula, así como la presencia de papilas y tricomas, permiten reconocer algunas especies. Estableció también que *Hesperoyucca whipplei* no comparte características cuticulares y epidérmicas con las especies de *Yucca*.

Jolly et al. (2021) investigaron la variación en la fisiología, morfología y anatomía de las hojas de *Yucca brevifolia* y *Hesperoyucca whipplei*. Concluyeron que hay variaciones en la conductancia estomática, las cuales relacionaron con el número de nervaduras por mm² en *H. whipplei* y el ancho de las hojas en *Y. brevifolia*.

En este estudio se examinó la anatomía foliar de algunos complejos de especies de *Yucca* que son similares morfológicamente, y cuya taxonomía es confusa para establecer si este tipo de caracteres podrían apoyar en su delimitación.

Materiales y métodos

Anatomía comparativa de la hoja

Se realizaron salidas al campo en México y Estados Unidos de América, donde se colectaron y herborizaron *Yucca capensis* L.W. Lenz, *Y. elata* (Engelm.) Engelm., *Y. filifera* Chabaud, *Y. madrensis* Gentry, *Y. potosina* Rzed., *Y. schotti* Engelm., *Y. torreyi* Shafer, *Y. treculeana* Carrière, *Y. valida* Brandegee y *Y. verdiensis* McKelvey (Apéndice 1). De los ejemplares colectados también se obtuvieron muestras de la porción media de las hojas adultas, se fijaron en una solución de formol, ácido acético glacial, etanol (96%) y agua destilada (10:5:50:35). Enseguida, se lavaron con agua corriente para eliminar el exceso del fijador y se almacenaron en una solución de glicerina, etanol (96%) y agua (1:1:1). De cada muestra se realizaron secciones transversales de aproximadamente 5 mm de longitud; estos segmentos se infiltraron e incluyeron en Paraplast (McCormick, St. Louis, MO, EUA). Posteriormente, se obtuvieron secciones transversales y paradermales de 12 µm de grosor utilizando un micrótopo rotatorio (Leica, RM2125RT, Wetzlar, Alemania).

La tinción de las secciones se realizó con safranina y verde rápido, luego se montaron en resina sintética (Johansen, 1940; Patiño, 1986). Las células y los tejidos se observaron en un microscopio compuesto (Eclipse E200, Nikon Corporation, Tokio, Japón). Las preparaciones histológicas fueron fotografiadas en 4x, 10x y 40x. Con el programa ImageJ versión 1.53t (Rasband, 2016) se registraron caracteres cuantitativos para complementar las descripciones anatómicas y evaluar entre especies atributos como el grosor de la cutícula superficial e incrustaciones de ésta, altura de las células epidérmicas y del parénquima en empalizada, diámetro de las células que conforman las vainas de los

haces vasculares y de las células conductoras del protoxilema y metaxilema; se consideraron 25 campos por tipo de célula o tejido (Gutiérrez et al. 2009).

Análisis de los datos

Para determinar posibles diferencias significativas en los atributos anatómicos cuantitativos, entre las diez especies analizadas, se realizaron análisis de varianza de un factor, cuando se detectaron diferencias significativas entre especies ($P < 0.05$), se llevaron a cabo pruebas de comparaciones múltiples de Tukey. Con la finalidad de evaluar si las características anatómicas cuantitativas registradas son útiles en la delimitación taxonómica de las especies de *Yucca* estudiadas, se efectuaron pruebas t de Student ($P < 0.05$) de dichos caracteres entre los pares de especies con taxonomía controvertida: *Y. capensis*-*Y. valida*, *Y. elata*-*Y. verdiensis*, *Y. filifera*-*Y. potosina*, *Y. madrensis*-*Y. schottii* y *Y. torreyi*-*Y. treculeana*. Todos los análisis estadísticos se realizaron con Minitab 18 para Windows (Minitab Inc. www.minitab.com).

Resultados

Anatomía comparativa de la hoja

En las especies de *Yucca* analizadas la cutícula es similar en ambas superficies, es lisa en *Y. capensis*, *Y. elata*, *Y. filifera*, *Y. potosina*, *Y. valida* y *Y. verdiensis* (Fig.1 A, B), mientras que en *Y. madrensis*, *Y. schottii*, *Y. torreyi* y *Y. treculeana* (Fig. 1 C, D) es estriada. En ambas superficies de la hoja, la región superficial de la cutícula y las incrustaciones de ésta exhiben un grosor significativamente mayor en *Y. filifera* y menor en *Y. verdiensis* (cutícula superficial: adaxial $F=173.07$, $P < 0.001$ abaxial $F=167.96$, $P < 0.001$ / incrustaciones: adaxial $F=114.50$, $P < 0.001$ abaxial $F=156.95$, $P < 0.001$). En las demás especies los valores fueron

menos variables. Por ejemplo, no se registraron diferencias significativas en la cutícula superficial adaxial para *Y. capensis*, *Y. elata* y *Y. valida*, y en la superficie abaxial correspondientes de *Y. capensis*, *Y. madrensis*, *Y. treculeana* y *Y. valida*. En todas las especies la hoja es anfiestomática, con estomas paracíticos hundidos y provistos de una cámara subestomática.

La epidermis en todas las especies está conformada por una capa de células cónicas a piriformes, con una a cuatro papilas (Fig. 1A-D). La mayor altura registrada de estas células en ambas superficies se observó en *Y. filifera* (adaxial $F=51.00$, $P<0.001$; abaxial $F=33.59$, $P<0.001$). En la superficie abaxial, las células más pequeñas las tienen *Y. madrensis* y *Y. schottii*, las otras siete especies no son significativamente diferentes. Ninguna de las especies estudiadas presenta hipodermis.

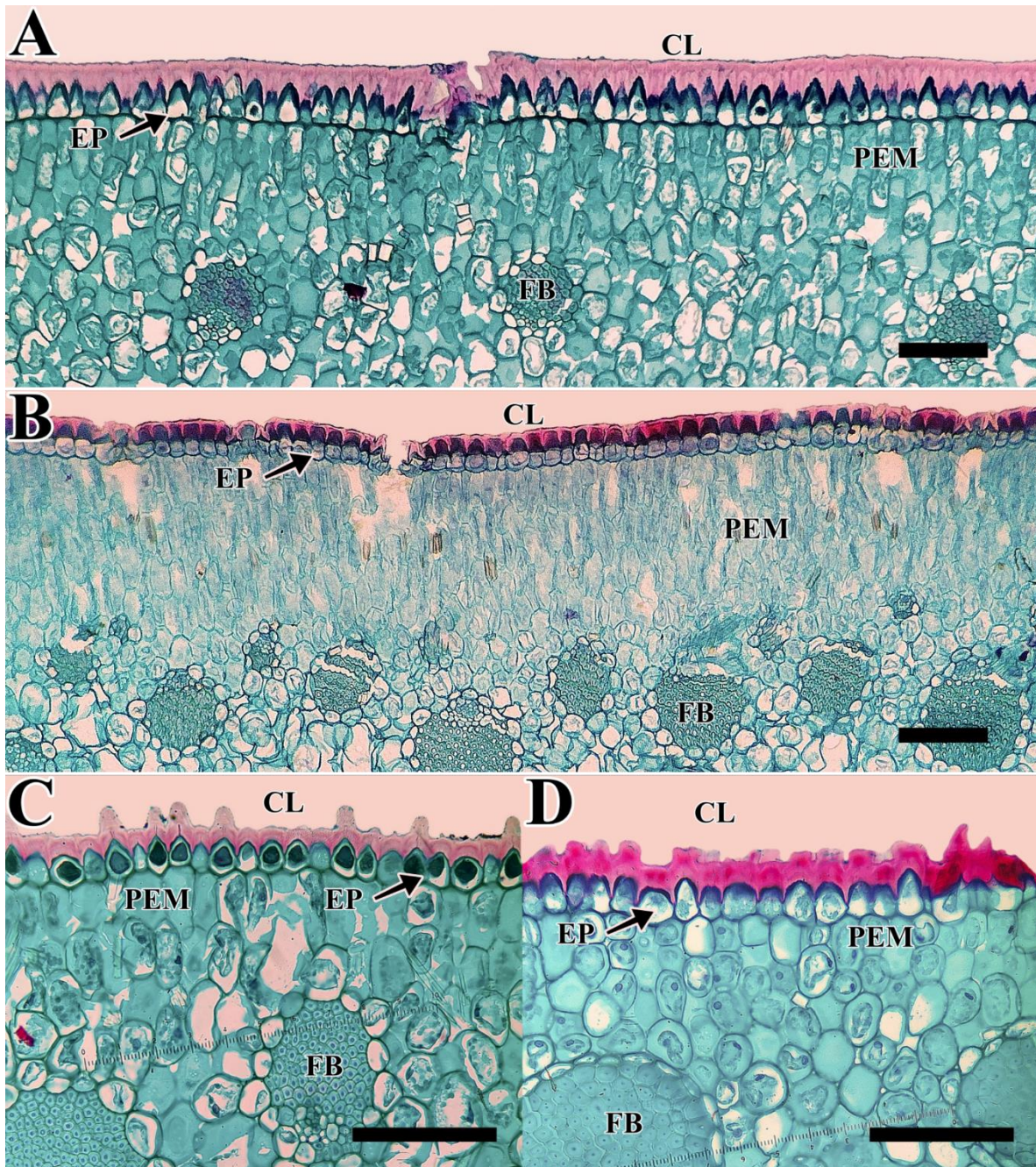


Figura 1. Sección transversal de la hoja. (A) *Yucca filifera*, (B) *Y. verdiensis*, (C) *Y. madrensis* y (D) *Y. treculeana*. CE=cutícula estriada, CL=cutícula lisa, EP=epidermis, FB=fibras, PEM=parénquima en empalizada. Escala=100 μ m.

En el mesofilo de todas las especies estudiadas se observan rafidios, estiloides y cristales prismáticos. El tejido fotosintético está constituido por parénquima en empalizada, organizado en un número variable de estratos de células generalmente oblongas (Fig. 1A-

D). Por ejemplo, van de dos a cinco en ambas superficies de la hoja en *Y. filifera*, hasta cuatro a seis en *Y. verdiensis*. De nuevo, *Y. filifera* tiene las células con mayor altura de este tejido, tanto en la superficie adaxial como en la abaxial, mientras que los valores menores se presentan en *Y. elata*, *Y. madrensis* y *Y. valida* (adaxial $F=42.96$, $P<0.001$; abaxial $F=69.10$, $P<0.001$).

Adyacentes a la región con parénquima fotosintético hay paquetes semicirculares de fibras, distribuidos uniformemente a lo ancho de los dos lados de la hoja. Los paquetes forman una hilera en *Y. madrensis*, *Y. schottii*, *Y. treculeana*, *Y. valida* y *Y. verdiensis* (Fig. 2A), dos hileras en *Y. capensis*, *Y. elata*, *Y. filifera* y *Y. potosina* (Fig. 2B); solamente *Y. torreyi* presenta tres hileras en la superficie adaxial y dos en la abaxial (Fig. 2C). En seis de las especies analizadas, la mayoría del mesofilo está ocupado por parénquima esponjoso, conformado a su vez, por células parenquimáticas isodiamétricas y espacios intercelulares pequeños. Asimismo, este tejido está restringido a una franja adyacente al parénquima en empalizada de cada lado de la hoja en *Y. filifera*, *Y. potosina*, *Y. torreyi* y *Y. verdiensis*, donde la porción central del mesofilo es laxo, con abundantes y amplios espacios intercelulares (Fig. 2B, C).

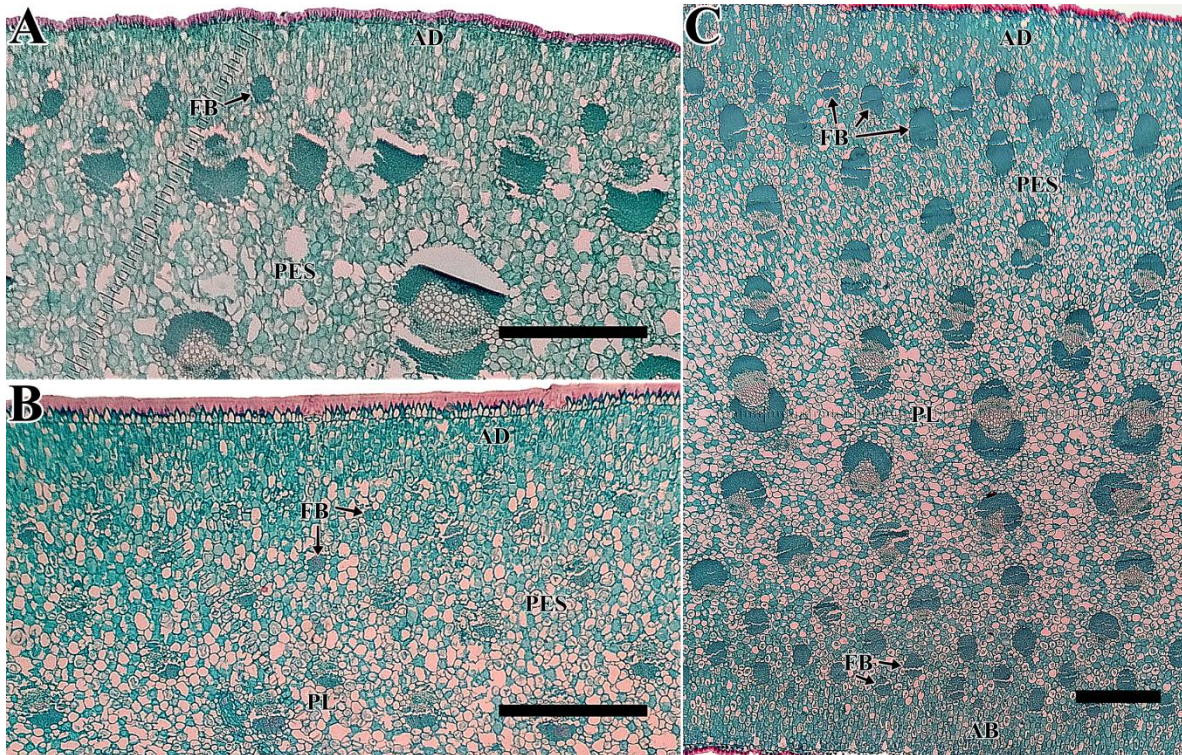


Figura 2. Sección transversal de la hoja. (A) *Yucca schottii*, (B) *Y. potosina*, (C) *Y. torreyi*. AB=superficie abaxial, AD=superficie adaxial, FB=fibras, PES=parénquima esponjoso, PL=parénquima laxo. Escala=500 μ m.

Los haces vasculares son colaterales, libres, ovados y se agrupan en filas a lo ancho de la hoja, hacia el centro del mesofilo éstos son de mayor tamaño (Fig. 2A, 2C). Hacia la porción media de la hoja hay cinco filas en *Y. madrensis*, *Y. schottii* y *Y. treculeana*, seis en *Y. valida*, siete en *Y. capensis*, *Y. elata* y *Y. torreyi*, ocho en *Y. verdiensis* y diez en *Y. filifera* y *Y. potosina*. También se observó que los haces están rodeados por una vaina de células parenquimáticas isodiamétricas, el diámetro de estas células es poco variable en siete de las especies estudiadas (Fig. 3A-3H). Sin embargo, en *Y. torreyi* y *Y. capensis* se registraron valores significativamente mayores que el resto de las especies, mientras que los diámetros más pequeños corresponden a *Y. verdiensis* ($F=24.98$, $P<0.001$). Al interior de la vaina, se presentan dos conjuntos de fibras localizados en los extremos de los haces

vasculares, donde el xilema se orienta hacia la superficie adaxial y el floema hacia la abaxial.

El xilema está diferenciado en protoxilema y metaxilema. El protoxilema consta de células poligonales con paredes engrosadas y engrosamientos helicoidales. El diámetro de los elementos conductores de este tipo de xilema lo registró *Y. capensis*, cuyos valores son similares a los de *Y. torreyi* y *Y. elata*. Las células más pequeñas se observaron en *Y. verdiensis* (F=24.92; P<0.001). El metaxilema está conformado por células ovadas o poligonales, más grandes y con paredes más gruesas y engrosamientos helicoidales más gruesos y abiertos que el protoxilema. Las células de metaxilema con mayor diámetro se encuentran también en *Y. capensis*, con valores que no difieren significativamente de los exhibidos por *Y. elata*, *Y. torreyi* y *Y. valida*; *Y. verdiensis* posee elementos metaxilemáticos con el menor diámetro (F=38.41; P<0.001). Al floema lo conforman elementos de tubo criboso semicirculares o poligonales, pequeños, con una a cuatro células acompañantes también poligonales. Los grosores de la cutícula, altura de la epidermis y parénquima en empalizada, diámetro de las células de la vaina y elementos traqueales del protoxilema y metaxilema se muestran en el cuadro 1.

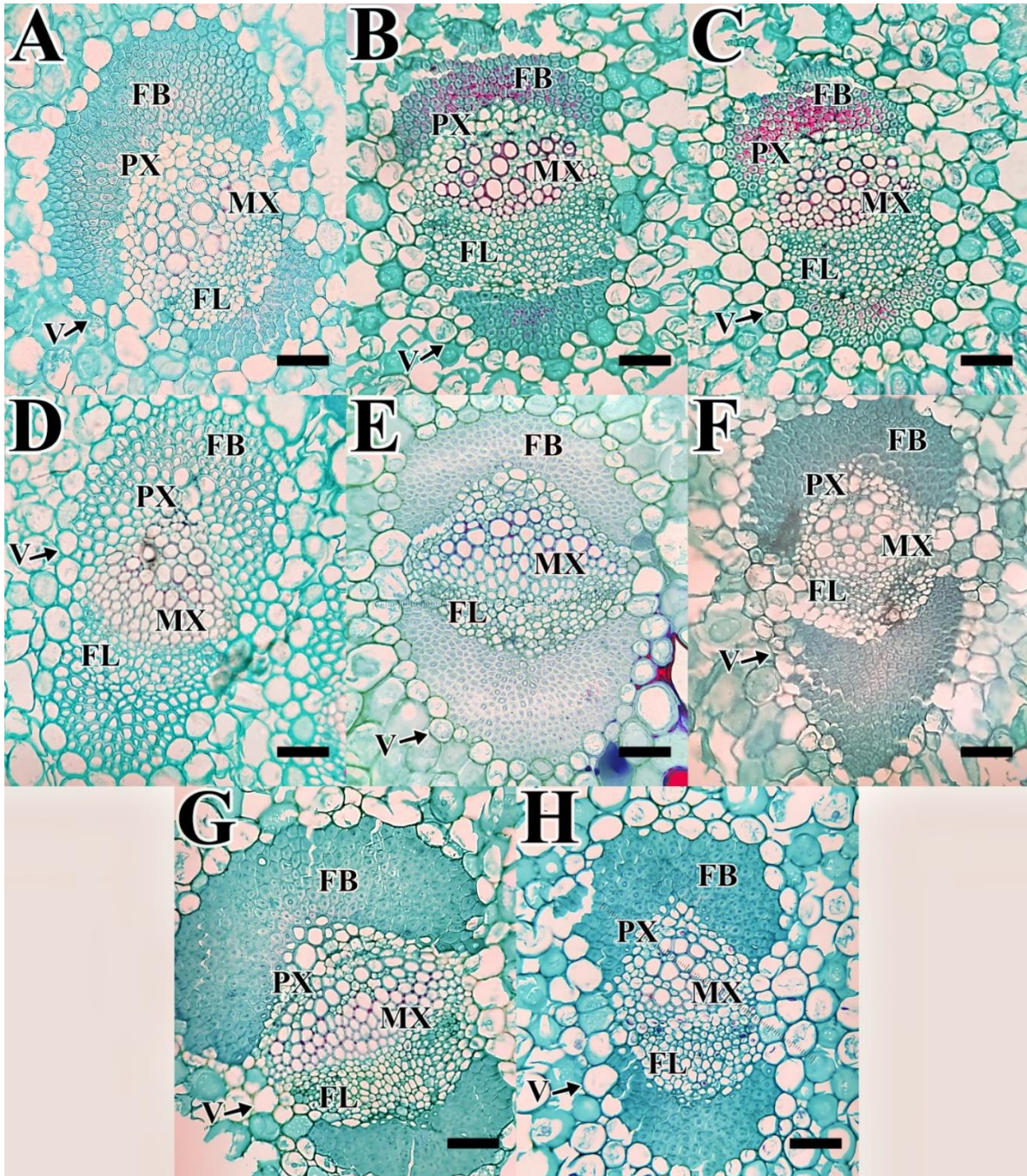


Figura 3. Sección transversal de la hoja, haces vasculares. (A) *Yucca capensis*, (B) *Y. filifera*, (C) *Y. potosina*, (D) *Y. verdiensis*, (E) *Y. madrensis*, (F) *Y. schottii*, (G) *Y. torreyi*, (H) *Y. treculeana*. FL=floema, FB=fibras, MX=metaxilema, PX=protoxilema, V=vaina del haz vascular. Escala=50 μ m.

Cuadro 1. Caracteres anatómicos cuantitativos de diez especies de *Yucca* (n=25 campos). Se presentan los valores promedio \pm la desviación estándar. AD, adaxial; AB, abaxial; MX, metaxilema; PEM, parénquima en empalizada; PX, protoxilema; VHV, vaina del haz vascular.

Especie	Cutícula				Epidermis		PEM		VHV	PX	MX
	Superficial		Incrustaciones		Altura AD	Altura AB	Altura AD	Altura AB	Diámetro	Diámetro	Diámetro
	Grosor AD (μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	Grosor AB (μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	Grosor AD (μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	Grosor AB (μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	(μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	(μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	(μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	(μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	(μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	(μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)	(μm ; $\bar{x} \pm \text{d.e.}$)
<i>Y. capensis</i>	10.27 \pm 1.33	12.89 \pm 1.36	21.34 \pm 3.64	23.20 \pm 4.01	42.59 \pm 6.95	38.52 \pm 5.40	62.63 \pm 18.98	43.72 \pm 8.58	30.14 \pm 8.49	9.61 \pm 1.33	17.78 \pm 3.18
<i>Y. elata</i>	10.53 \pm 2.46	9.99 \pm 1.92	27.93 \pm 5.19	25.28 \pm 3.62	37.91 \pm 5.00	33.75 \pm 4.77	33.37 \pm 5.61	33.82 \pm 6.35	18.45 \pm 4.44	8.94 \pm 2.62	17.70 \pm 2.17
<i>Y. filifera</i>	38.60 \pm 9.01	49.67 \pm 11.24	62.60 \pm 15.49	70.93 \pm 14.05	47.86 \pm 9.42	44.54 \pm 10.69	74.22 \pm 17.99	79.80 \pm 12.76	22.19 \pm 4.84	5.89 \pm 1.11	12.16 \pm 1.96
<i>Y. madrensis</i>	26.54 \pm 5.21	17.17 \pm 5.34	25.75 \pm 3.15	21.33 \pm 3.53	25.70 \pm 4.17	21.81 \pm 3.13	34.91 \pm 8.88	35.04 \pm 7.46	21.00 \pm 4.84	6.89 \pm 1.52	13.52 \pm 2.37
<i>Y. potosina</i>	28.91 \pm 5.62	25.13 \pm 5.27	45.44 \pm 6.22	42.58 \pm 4.16	34.56 \pm 7.32	38.38 \pm 8.77	45.40 \pm 12.95	38.82 \pm 9.45	18.06 \pm 6.27	6.51 \pm 1.42	11.14 \pm 1.84
<i>Y. schotii</i>	20.84 \pm 3.02	27.28 \pm 5.37	28.23 \pm 3.24	28.43 \pm 3.84	24.29 \pm 3.81	24.33 \pm 3.84	36.48 \pm 10.38	41.96 \pm 9.63	18.98 \pm 4.32	7.49 \pm 1.74	15.18 \pm 4.76
<i>Y. torreyi</i>	31.97 \pm 4.74	29.24 \pm 7.13	57.02 \pm 16.21	49.11 \pm 13.56	38.60 \pm 4.95	38.50 \pm 8.68	51.89 \pm 11.18	49.54 \pm 8.95	31.34 \pm 9.27	8.94 \pm 2.49	15.79 \pm 3.27
<i>Y. treculeana</i>	16.10 \pm 3.79	16.45 \pm 3.47	22.44 \pm 3.07	23.75 \pm 4.07	29.91 \pm 2.77	36.24 \pm 4.78	46.88 \pm 10.22	46.00 \pm 10.95	20.75 \pm 5.20	5.90 \pm 2.01	12.58 \pm 3.40
<i>Y. valida</i>	12.21 \pm 2.59	14.09 \pm 2.96	26.24 \pm 4.77	28.73 \pm 5.63	33.63 \pm 4.01	35.60 \pm 5.37	28.97 \pm 8.69	32.01 \pm 6.82	21.33 \pm 3.96	7.57 \pm 1.84	15.55 \pm 2.44
<i>Y. verdiensis</i>	6.40 \pm 1.71	5.22 \pm 1.25	18.84 \pm 2.35	18.26 \pm 3.34	32.19 \pm 4.28	33.72 \pm 4.38	37.35 \pm 7.30	36.97 \pm 8.39	14.26 \pm 3.33	4.35 \pm 1.15	7.11 \pm 2.18

Comparación entre especies con taxonomía discutida

Se registraron diferencias significativas al comparar los grosores de la cutícula, la altura de la epidermis y parénquima en empalizada, el diámetro de las células de la vaina que rodea a los haces vasculares y de los elementos traqueales del protoxilema y metaxilema, entre los cinco pares de especies cuya delimitación taxonómica es controvertida. Se observó que una de las especies de cada par presenta valores significativamente mayores en la mayoría de los atributos evaluados (Cuadro 2).

En el par *Yucca capensis*-*Y. valida*, *Y. capensis* registró valores mayores en siete de los 11 caracteres: alturas de la epidermis y parénquima en empalizada adaxial y abaxial, diámetros de las células de la vaina de los haces vasculares y los elementos traqueales del protoxilema y metaxilema. Se obtuvieron resultados similares entre *Y. elata*-*Y. verdiensis*; sin embargo, las células de la epidermis y el parénquima en empalizada abaxiales no difieren entre estas dos especies.

Para el complejo de *Yucca filifera*-*Y. potosina*, la primera especie exhibió los valores mayores siempre que hubo diferencias significativas, solamente el diámetro del protoxilema fue similar entre estas especies. Del mismo modo, en el par *Y. torreyi*-*Y. treculeana*, *Y. torreyi* posee los valores mayores en ocho atributos anatómicos, en los tres restantes, alturas de la epidermis abaxial y del parénquima en empalizada de ambos lados de la hoja, no se presentaron diferencias significativas. Los resultados en *Y. madrensis*-*Y. schottii* variaron más que en los complejos anteriores. *Yucca schottii* presentó valores mayores en los grosores de la cutícula superficial abaxial e incrustaciones de ambas superficies de la hoja, alturas de la epidermis y parénquima en empalizada abaxiales. En *Y. madrensis* sólo la cutícula

superficial adaxial es más gruesa que en *Y. schottii*, y en las características restantes no difieren de manera significativa.

Cuadro 2. Comparación de caracteres anatómicos cuantitativos en cinco pares de especies de *Yucca*, mediante pruebas t de Student. Los asteriscos indican diferencias significativas en los atributos anatómicos entre los pares de especies ($P < 0.05$). AD, adaxial; AB, abaxial; MX, metaxilema; PEM, parénquima en empalizada; PX, protoxilema; VHV, vaina del haz vascular.

Pares de especies	Cutícula				Epidermis		PEM		VHV	PX	MX
	Superficial		Incrustaciones		Altura AD (t; P)	Altura AB (t; P)	Altura AD (t; P)	Altura AB (t; P)	Diámetro (t; P)	Diámetro (t; P)	Diámetro (t; P)
	Grosor AD (t; P)	Grosor AB (t; P)	Grosor AD (t; P)	Grosor AB (t; P)							
<i>Y. capensis</i> <i>Y. valida</i>	-3.64 ; 0.001*	-2.01 ; 0.049*	-4.47 ; <0.001*	-4.38 ; <0.001*	6.11 ; <0.001*	2.09 ; 0.041*	8.83 ; <0.001*	5.85 ; <0.001*	5.14 ; <0.001*	4.91 ; <0.001*	3.04 ; 0.004*
<i>Y. elata</i> <i>Y. verdiensis</i>	7.52 ; <0.001*	11.36 ; <0.001*	8.73 ; <0.001*	7.79 ; <0.001*	4.76 ; <0.001*	0.03 ; 0.98	-2.37 ; 0.021*	-1.64 ; 0.107	4.12 ; <0.001*	8.76 ; <0.001*	18.83 ; <0.001*
<i>Y. filifera</i> <i>Y. potosina</i>	5.0 ; <0.001*	10.82 ; <0.001*	5.63 ; <0.001*	10.60 ; <0.001*	6.11 ; <0.001*	2.44 ; 0.018*	7.12 ; <0.001*	14.13 ; <0.001*	2.86 ; <0.001*	-1.9 ; 0.062	2.08 ; 0.042*
<i>Y. madrensis</i> <i>Y. schotii</i>	5.18 ; <0.001*	-7.31 ; <0.001*	-3.0 ; <0.001*	-7.44 ; <0.001*	1.37 ; 0.176	-2.78 ; <0.001*	-0.63 ; 0.53	-3.11 ; <0.001*	1.71 ; 0.093	-1.40 ; 0.166	-1.71 ; 0.092
<i>Y. torreyi</i> <i>Y. treculeana</i>	14.30 ; <0.001*	8.83 ; <0.001*	11.48 ; <0.001*	9.81 ; <0.001*	8.39 ; <0.001*	1.25 ; 0.217	1.81 ; 0.076	1.37 ; 0.175	5.45 ; <0.001*	5.19 ; <0.001*	3.73 ; <0.001*

Discusión

Anatomía comparativa de la hoja

Los caracteres analizados varían entre las especies. Algunos de estos caracteres han sido señalados como adaptaciones xéricas; entre ellos están el grosor y ornamentación de la cutícula, la posición de los estomas, la ausencia o presencia y número de papilas en la epidermis, así como el parénquima en empalizada bien desarrollado (McCledon, 1908; Weatherwax, 1956; Roux-López, 1964; Esau, 1965; Eagan, 1969; Álvarez, 1990; Solano et al., 2017). En el presente trabajo, además de las características arriba mencionadas, también se registraron diferencias en el tamaño y forma de las células epidérmicas, número de hileras de fibras en el mesofilo, así como el diámetro de las células que conforman al metaxilema y protoxilema.

De acuerdo con la ornamentación de la cutícula hay dos grupos. El primero está conformado por *Yucca capensis*, *Y. elata*, *Y. filifera*, *Y. potosina*, *Y. valida* y *Y. verdiensis* (Fig. 1 A, B) cuya cutícula es lisa; en el segundo están *Y. madrensis*, *Y. schottii*, *Y. torreyi* y *Y. treculeana* (Fig. 1 C, D) que la tienen estriada. Sánchez-Manzo (2020) documentó que la cutícula es irregular en 18 especies de *Yucca* y lisa en nueve; en géneros cercanos como *Manfreda*, también la mayoría de las especies tienen cutícula lisa (Solano et al., 2017), mientras que en *Beschorneria* (García-Mendoza, 1987) y *Polianthes* prevalece la cutícula estriada, y sólo *P. densiflora* la presenta lisa (Solano, 2000). Lo anterior concuerda con lo señalado por Álvarez (1990) quien indicó que en Agavaceae la cutícula es compleja estructuralmente.

La cutícula en *Yucca* y otras Agavoideae es generalmente gruesa como una adaptación a climas xerófilos (Blunden y Binns, 1970; Álvarez de Zayas, 1990; Solano et

al. 2017; Murillo et al. 2018). Para *Yucca* se han registrado grosores de 5 a 20 μm (Eagan, 1969; Wiedemann & Neinhuis, 1998; Edelmann et al., 2005; Sánchez-Manzo, 2020). En el presente estudio los valores más pequeños corresponden a *Y. verdiensis* (5.22 ± 1.25 y 6.40 ± 1.71 μm en la adaxial,) y los más altos a *Y. filifera* (38.60 ± 9.01 y 49.67 ± 11.24 en la cara adaxial y en la cara abaxial). *Yucca verdiensis* se establece en laderas rocosas y cañones de pastizales, y matorrales en Arizona (McKelvey, 1947; Hess y Robins, 1996); a su vez *Y. filifera* se desarrolla principalmente en matorrales xerófilos del centro de México (Matuda y Piña, 1980). Ambas especies habitan zonas áridas a semiáridas, por lo que las variaciones en el grosor de la cutícula no sólo están relacionadas con el ambiente. De acuerdo con algunos estudios, entre los factores que promueven que las cutículas de las plantas sean más gruesas están las temperaturas altas y el estrés hídrico, especialmente aquellas que habitan zonas áridas (McCledon, 1908; Blunden y Binns, 1970; Bi et al., 2017; Chen et al., 2020). También es posible que las diferencias entre el espesor y la estructura de la cutícula estén determinadas por patrones genéticos y la edad de la planta (Eagan, 1969; Yeats y Rose, 2013; Chávez-Güitrón et al., 2019).

Los caracteres epidérmicos foliares han sido útiles como diagnósticos en el nivel de especie (Yousaf et al., 2008; Klimko et al., 2018; Vislobokov et al., 2021). En la epidermis las diferencias entre especies se registraron en la forma y el tamaño de las células, además del número de papilas para ambas superficies de la hoja. La forma más común de las células epidérmicas es piriforme, y en *Yucca capensis*, *Y. filifera* y *Y. potosina* son cónicas. *Yucca filifera* se distingue de las demás especies por presentar las células epidérmicas con la mayor longitud para ambas superficies; mientras que *Y. schottii* y *Y. madrensis* tienen los valores más pequeños (cuadro 1).

La presencia de papilas es un carácter útil en la taxonomía de monocotiledóneas (Blunden y Jewers; 1973). Dentro de Agavoideae las papilas han sido registradas en *Beschorneria*, *Prochnyanthes*, *Hesperaloe* y *Hesperoyucca* (Verhoek-Williams, 1998; Álvarez, 1990), *Agave* (Giraldo-Cañas, 2017), *Polianthes* y *Manfreda* (Solano et al., 2013; 2017). En *Yucca*, Sánchez-Manzo (2020) indicó que las papilas son poco frecuentes, pues únicamente cuatro de las 26 especies que analizó las presentaron. Todas las especies analizadas aquí tienen papilas en ambas superficies, en *Y. treculeana*, *Y. torreyi* y *Y. verdiensis* las tienen solitarias; para *Y. capensis* y *Y. valida* son pareadas; en *Y. schottii* y *Y. madrensis* son solitarias en la superficie adaxial y pareadas en la abaxial; *Y. elata* posee de una a cuatro; a su vez en *Y. filifera* y *Y. potosina* pueden ser pareadas o solitarias. Sin embargo, la presencia o ausencia de papilas han sido relacionadas con la edad de la hoja (Blunden y Jewers; 1973). Funcionalmente son importantes porque facilitan y regulan la captación y la cantidad de luz, además, evitan que se calienten los tejidos y se dañen los estomas (Vogel, 1970; Lindorf et al., 1991; Sandoval-Zapotitla et al. 2003).

Las 10 especies evaluadas tienen estomas paracíticos, hundidos en las dos caras de la hoja, asimismo, hay cámaras estomáticas asociados a ellos. En otros trabajos se han descrito para *Yucca* estomas paracíticos y tetracíticos (Álvarez, 1990; Sanchez-Manzo; 2020), y sólo en *Y. glauca* son anomocíticos (Blunden y Bins, 1970). Es frecuente que haya más de un tipo estomático en el mismo género e incluso dentro de la misma especie (Álvarez, 1990; Flores-Vindas, 1999). En géneros cercanos como *Polianthes* (Solano et al., 2013) y *Manfreda* (Solano et al., 2017) prevalecen los estomas paracíticos, mientras que, *Agave*, *Beschorneria*, *Fucraea*, *Hesperaloe* y *Hesperoyucca* los tienen principalmente tetracíticos (Shah y Gopal, 1970; Blunden y Jewers, 1973; Álvarez, 1990).

Tomlinson (1974) consideró que en las monocotiledóneas el tipo paracítico es más desarrollado que el anomocítico. En cambio, para Álvarez (1990) los complejos paracítico y anomocítico derivaron del tetracítico, y concluyó que la complejidad en la epidermis y los estomas en las especies de *Yucca*, se deben a la adaptación a los ambientes secos en los que se desarrollan estas plantas. Rudall et al. (2017) indicaron que los estomas anomocíticos son probablemente plesiomórficos en las monocotiledóneas, aunque también señalaron múltiples transiciones e inversiones de ese carácter.

La variación del tipo estomático asociada a convergencias en Agavoideae tiene determinado apoyo en los análisis filogenéticos sobre *Yucca* (Clary, 1997; Pellmyr et al., 2007; Smith et al., 2008), ya que los complejos paracítico y tetracítico están presentes tanto en las especies de divergencia temprana, como en las ubicadas en las ramas terminales. Algunos caracteres como la forma de las cámaras estomáticas, extensión y relieve de las células subsidiarias y el de las células epidérmicas, le permitieron a McClendon (1908) y a Álvarez (1990) distinguir especies en *Agave*, *Dasylyrion*, *Furcraea*, *Nolina* y *Yucca*. Sin embargo, en este estudio no evaluamos dichas características.

Esau (1965) utilizó el término isobilateral para indicar que el tejido en empalizada está en ambas caras de la hoja, y afirmó que la condición isobilateral es xeromórfica; este tejido provee protección a las hojas durante la sequía (Stephanou y Manetas, 1997). Asimismo, células grandes y apretadas de este tipo de parénquima, han sido señaladas como requisitos para un funcionamiento óptimo del metabolismo CAM (Zambrano et al., 2014). En *Yucca* se presentan especies con metabolismo CAM, C₃ y algunas con C₃-CAM (Heyduk et al., 2016). El mesofilo de las yucas de esta investigación tiene parénquima en empalizada organizado en dos a cinco hileras de células en el haz, y de tres a seis en el envés, pero difiere

entre las especies principalmente en la longitud de sus células. *Yucca valida* tiene las células de menor longitud y *Y. filifera* las más grandes. También hay parénquima esponjoso en las 10 especies, y sólo en *Y. filifera*, *Y. potosina*, *Y. torreyi* y *Y. verdiensis* la región central del tejido esponjoso posee numerosos y amplios espacios de aire intercelulares. Estos espacios ya habían sido descritos en algunas especies del género (McClendon, 1908; Eagan, 1969). Heyduck et al. (2016) analizaron la anatomía y fisiología de tres especies de *Yucca*, sus resultados muestran una correlación negativa entre el tamaño de las células del mesofilo y el espacio de aire intercelular, y una correlación positiva entre la succulencia de las hojas y el tamaño de las células del mesofilo. En este estudio las células más grandes del mesofilo corresponden a *Y. filifera*, que es una de las especies más succulentas analizadas aquí y en el género. En contraparte, *Y. valida* la especie con células del mesofilo más pequeñas, es menos succulenta que *Y. filifera*, pero no la menos succulenta del género o de las especies de este análisis.

En lo referente a las inclusiones minerales, los rafidios son los más comunes en las monocotiledóneas, seguido de los estiloides y las drusas (Prychid y Rudall, 1999; Kono et al., 2014). Su papel va desde reguladores de calcio, soporte estructural, defensa por herbivoría, almacenamiento y bioacumulación de componentes, hasta participantes en la fotosíntesis (Franceschi y Horner, 1980; Franceschi, 2001; Riederer, 2016). En Agavaceae se ha documentado la presencia de rafidios y estiloides en diferentes órganos (Arnott, 1958, 1981; Wattendorff, 1976; Dahlgren y Clifford, 1982; Tadokoro et al., 2005; Monje y Baran, 2010). Eagan (1969) observó numerosos rafidios y escasos cristales prismáticos en el parénquima empalizada para *Yucca campestris*, tanto en hojas jóvenes como en maduras. Blunden y Bins (1970) destacaron que los cristales aciculares son uno de los caracteres

diagnósticos de *Y. glauca*. En el mesofilo de todas las especies estudiadas se observaron rafidios, estiloides y en algunas más, cristales prismáticos; no obstante, su abundancia es variable en cada caso. Por ejemplo, *Y. capensis* exhibió pocos estiloides y rafidios sólo en el parénquima esponjoso, *Y. valida* posee estiloides abundantes en el parénquima en empalizada y escasos en el tejido esponjoso; mientras que, en *Y. elata* se observaron abundantes rafidios en el mesofilo, algunos de ellos están próximos a la epidermis, los estiloides son escasos en el parénquima en empalizada y frecuentes en la porción esponjosa. Los rafidios en *Y. madrensis* se localizan abundantemente en todo el mesofilo y cerca de las fibras, a su vez los estiloides además del mesofilo también están cerca de la epidermis solos o en paquetes. En algunas especies como *Y. elata* o *Y. capensis* la presencia de cristales de calcio en el mesofilo esponjoso, y por tanto, cercanos a los haces vasculares podría estar relacionada con la eficiencia y seguridad con la que el agua se transporta a través del xilema, ya que el calcio estaría disolviéndose en el agua xilemática, si se reblandecen las punteaduras aumenta el flujo de agua y la cavitación (Herbertte y Cochard, 2010; Alemán-Sancheschúlz, 2021).

Las características del tejido vascular también tienen valor taxonómico, entre ellos están los haces vasculares. En *Yucca* estos haces son colaterales, libres y están rodeados primero por una vaina de parénquima y después por paquetes de fibras arriba y debajo de éstos (Bell y King, 1944; Eagan, 1969; Blunden y Bins, 1970) (Fig. 2). En *Agave*, *Hesperaloë*, *Hesperoyucca* y *Prochnyanthes* los paquetes vasculares son semitrabados y también presentan la vaina parenquimática (Álvarez, 1990); mientras que, en *Polianthes* y *Manfreda pringlei* también se observa la vaina y los haces vasculares al igual que en *Yucca* son colaterales (Solano et al., 2013; 2017). Por otro lado, las fibras en *Agave* rodean por tres lados al haz vascular (Bell y King, 1944).

En *Yucca* y géneros cercanos como *Agave* no hay elementos de vaso en las hojas ni tallos, pero sí en las raíces (Carlquist, 1975). Los elementos del xilema observados aquí están diferenciados en protoxilema y metaxilema, los diámetros más grandes de las células protoxilemáticas corresponden a *Y. capensis* y *Y. torreyi*, y los más pequeños a *Y. verdiensis* ($F=24.92$; $P<0.001$). Las células metaxilemáticas con mayor diámetro se encuentran también en *Y. capensis*, cuyos valores no difieren significativamente de los exhibidos por *Y. elata*, *Y. torreyi* y *Y. valida*; *Y. verdiensis*.

Comparación entre especies con taxonomía discutida

En los complejos de especies los caracteres examinados se registraron valores más grandes siempre en una de ellas. Entre *Yucca capensis* y *Y. valida*, algunas de las diferencias a destacar son la cutícula más gruesa en *Y. valida* y la presencia de rafidios solamente en el mesofilo. En cambio, *Y. capensis* tiene células de mayor tamaño en el mesofilo y el tejido vascular. Además, los rafidios están presentes tanto en las cámaras subestomáticas como en el mesofilo. Ambas especies son endémicas de la Península de Baja California, México (Matuda y Piña, 1980; Lenz, 1997); a lo largo de su distribución ambas son variables fenotípicamente sobre todo en los caracteres vegetativos, así como en su genética (Arce-Montoya et al., 2006; Artega et al., 2015). Asimismo, hay poblaciones híbridas donde la similitud morfológica complica su identificación, como ocurre en la llanura de la Magdalena (Artega et al., 2020). En estudios filogenéticos *Y. capensis* y *Y. valida* son especies hermanas o muy cercanas (Pellmyr et al., 2007; Smith et al., 2008). Los resultados de este análisis adicional a las otras evidencias mencionadas apoyan que son taxones separados.

Yucca filifera es la especie con la distribución geográfica más amplia del género. Esta especie se localiza en la porción mexicana del Desierto Chihuahuense, desde Coahuila hasta el Estado de México (Matuda y Piña, 1980; Caballero, 2022). Por otro lado, *Y. potosina* está restringida a Guadalcázar, San Luis Potosí, donde comparte hábitat con *Y. filifera* a la que es parecida morfológicamente (Rzedowski, 1955). Ambas especies tienen tallos simples o ramificados, hojas con el margen filífero, inflorescencias péndulas que sobresalen del follaje, así como flores y frutos de tamaño parecido (Rzedowski, 1955; Matuda y Piña, 1980).

De acuerdo con los resultados de la presente investigación, en la anatomía de sus hojas, tanto *Y. filifera* como *Y. potosina* exhiben una cutícula lisa, células epidérmicas cónicas y papilas en pares, dos hileras de fibras en el mesofilo, 10 filas de haces vasculares hacia la porción media de la lámina y abundantes espacios intercelulares en el parénquima esponjoso. Por otro lado, también se registraron diferencias significativas entre ambas especies en 10 de los 11 caracteres anatómicos evaluados. Asimismo, la evidencia filogenética molecular apoya que son taxones distintos (Ayala et al. 2023 en preparación).

Yucca torreyi-*Y. treculeana* fue referido por Robins (1983) como el complejo más difícil de los cuatro que evaluó para especies con fruto carnoso del Desierto Chihuahuense. Señaló que los caracteres morfológicos como la altura, el color, tamaño de las hojas y el tipo de fibras en los márgenes de estas, así como la forma de la sutura del carpelo utilizados por algunos autores (McKelvey, 1938; Weber, 1953; Matuda y Piña, 1980), no son totalmente discriminantes, sino más bien confusos. Destacó que es más difícil identificarlas en Cuatro Ciénegas, Coahuila, donde las dos especies ocurren simpátricamente, sobre todo

cuando están vegetativas. Con base en sus resultados no hubo una separación clara de estas dos especies, concluyendo que es una sola entidad: *Y. treculeana*.

En nuestra investigación el complejo *Y. treculeana*-*Y. torreyi* tuvo menos diferencias que los demás, presentó variación en ocho de los 11 caracteres evaluados. Y en los análisis filogenéticos de Clary (1997), *Y. treculeana* y *Y. torreyi* forman un clado con baja resolución en el que también están *Y. filifera*, *Y. queretaroensis* y *Y. madrensis*. En otros análisis similares *Y. torreyi* no fue incluida (Pellmyr et al., 2007; Smith et al., 2008). La información obtenida en este y los otros estudios mencionados no facilita su reconocimiento como taxones separados. También se podría considerar que, en este complejo, la variación morfológica y la anatómica de este trabajo se deba al hábitat o a la variación intraespecífica como fue señalado por Robins (1983). En ocasiones una misma especie desarrolla diferentes características en la anatomía de sus hojas ante diversos grados de estrés por sequía (Chávez-Güitrón, et al., 2019; Hu et al., 2022; Jin et al., 2022), condición que no sólo las especies de este complejo experimentan, sino la mayoría de las yucas debido a los hábitats que ocupan.

Del complejo conformado por *Yucca elata*-*Y. verdiensis*, la primera especie presenta la mayor variación morfológica y tiene la distribución geográfica más amplia entre las yucas con fruto seco (McKelvey, 1947; Reveal, 1977; Smith y Ludwig, 1978). Weber (1953) consideró que en todo el rango de distribución *Y. elata* forma híbridos principalmente con *Y. glauca*, pero no realizó el tratamiento taxonómico de éstos. Hess y Robins (1996) circunscribieron a *Y. verdiensis* como una variedad de *Y. elata*, separándola de la variedad tipo por el tamaño más pequeño de las hojas, los pistilos y las cápsulas. Aunque también indicaron que, debido a la variación morfológica, es difícil reconocerlas.

Por otro lado, con evidencia molecular *Y. elata* es diferente de *Y. verdiensis*, aunque son especies hermanas (Clary, 1997). En nuestros resultados se observaron diferencias en nueve de los 11 caracteres evaluados entre las dos especies, y solamente las células de la epidermis y el parénquima en empalizada abaxiales no variaron significativamente.

En general, los caracteres anatómicos son variables entre todas las especies y entre cada par de los complejos. Sin embargo, es necesario ampliar el muestreo e incluir un mayor número de localidades, así como analizar otras características, por ejemplo, las proyecciones de los estomas, el número y tamaño de las fibras que rodean a los haces vasculares, entre otras. También se podrían evaluar órganos menos estudiados como las raíces, los tallos, las flores, los frutos y las semillas, no sólo desde el punto de vista taxonómico, sino fisiológico o evolutivo.

Conclusiones

La variación anatómica registrada es útil en la evaluación taxonómica en el nivel genérico y específico. En el primer nivel, permiten distinguir a *Yucca* de otros miembros de Agavoideae. En el específico resultaron valiosos sobre todo cuando se usan con otras características como las morfológicas, del hábitat, moleculares o geográficas, porque ayudan a tener un panorama más amplio en la delimitación de estas plantas.

La información obtenida de las células y los tejidos también da oportunidad de reconocer similitudes funcionales o evolutivas en plantas de zonas áridas o que están sometidas a estrés por sequía, indagar sobre los procesos que se llevan a cabo en ellas, o relacionar algunas funciones de sus estructuras con el hábitat.

Referencias

Alemán-Sancheschúlz, G., Solano, E., Terrazas, T., & López-Portillo, J. (2020). Functional anatomy and xylem cavitation resistance of three species of monocotyledons grown on flooded substrates. *Physiologia Plantarum*, 169(4), 571-585.

<https://doi.org/10.1111/ppl.13078>

Álvarez, A. (1985). El complejo estomático en la familia Agavaceae I. Desarrollo. *Feddes Repertorium*, 96, 693-704.

Álvarez, A. (1990). El complejo estomático en la familia Agavaceae II. Epidermis adulta. *Feddes Repertorium*, 101(3-4), 113-134. <https://doi.org/10.1002/fedr.19901010304>

Angyalossy, V., Angeles, G., Pace, M. R., Lima, A. C., Dias-Leme, C. L., Lohmann, L. G., & Madero-Vega, C. (2012). An overview of the anatomy, development and evolution of the vascular system of lianas. *Plant Ecology & Diversity*, 5(2), 167-182.

<https://doi.org/10.1080/17550874.2011.615574>

APG III. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 105-121. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x>

APG IV. (2016). Angiosperm Phylogeny Group. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181(1), 1-20. <http://dx.doi.org/10.1111/boj.12385>

- Arce-Montoya, M., Rodríguez-Álvarez, M., Hernández-González, J., & Robert, M. L. (2006). Micropropagation and field performance of *Yucca valida*. *Plant Cell Reports*, 25(8), 777-783. <https://doi.org/10.1007/s00299-006-0144-3>
- Arnott, H. J. (1958). *Morphology and anatomy of Yucca L.* Amsterdam University Press.
- Arnott, H. J. (1981). An SEM study of twinning in calcium oxalate crystals of plants. *Scanning Electron Microscopy* 3, 225-234.
- Arteaga, M. F., Bello-Bedoy, R., De La Luz, J. L. L., Delgadillo, J. A., & Dominguez, R. (2015). Phenotypic variation of flowering and vegetative morphological traits along the distribution for the endemic species *Yucca capensis* (Agavaceae). *Botanical Sciences*, 93(4), 765-770. <https://doi.org/10.17129/botsci.214>
- Arteaga, M. F., Bello-Bedoy, R., & Gasca-Pineda, J. (2020). Hybridization between yuccas from Baja California: genomic and environmental patterns. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00685>
- Bell, W., & King, C. (1944). Methods for the identification of the leaf fibers of mescal (*Agave*), *Yucca* (*Yucca*), Beargrass (*Nolina*) and Sotol (*Dasylirion*). *American Antiquity*, 10(2), 150-160. <https://doi.org/10.2307/275111>
- Blunden, G., & Binns, W. W. (1970). The leaf anatomy of *Yucca glauca* Nutt. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 63(2), 133-141. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1970.tb02545.x>

Blunden, G., & Jewers, Y. K. (1973). The comparative leaf anatomy of *Agave*, *Beschorneria*, *Doryanthes* and *Furcraea* species (Agavaceae: Agaveae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 66(2),157–179. <https://doi.org/10.1111/j.10958339.1973.tb02167.x>

Caballero, A. (2022). *Modelación del nicho ecológico de Yucca (Asparagaceae, Agavoideae) para evaluar categorías de riesgo*. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.

Carlquist, S. (1975). Monocotyledons; Nymphaeales. In S. Carlquist (Ed.). *Ecological Strategies of Xylem Evolution* (pp. 109-112). University of California Press.

Chávez-Güitrón, L. E., Salinas-Pérez, F. D. C., Pérez-Salinas, E. A., Caballero, J., Vallejo-Zamora, A. y Sandoval-Zapotitla, E. (2019). Variación de caracteres epidérmico-foliare de *Agave salmiana* subsp. *salmiana* (Asparagaceae) en el centro de México. *Botanical Sciences*, 97(4), 711-724. <https://doi.org/10.17129/botsci.2159>

Chen, M., Zhu, X., Zhang, Y., Du, Z., Chen, X., Kong, X., Sun, W., & Chen, C. (2020). Drought stress modify cuticle of tender tea leaf and mature leaf for transpiration barrier enhancement through common and distinct modes. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63683-4>

Clary, K. H. (1997). *Phylogeny, character evolution, and biogeography of Yucca L. (Agavaceae) as inferred from plant morphology and sequences of the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of the nuclear ribosomal DNA*. Ph.D dissertation. University of Texas, Austin, Texas.

Dahlgren, R. M. T., Clifford, H. T. & Yeo, P. F. (1985). *The families of the monocotyledons: structure, evolution, and taxonomy*. Springer-Verlag.

<https://doi.org/10.1007/978-3-642-61663-1>

Data Analysis, Statistical & Process Improvement Tools | Minitab. (2022).

<https://www.minitab.com/en-us/>

Dickison, W. C. (2000). *Integrative plant anatomy*. New York: Academic Press.

Eagan, B. A. (1969). Comparative anatomy of the leaves of *Yucca campestris* McKelvey. Master of Science Thesis. Faculty of Texas Technological College.

Edelmann, H. G., Neinhuis, C., & Bargel, H. (2005). Influence of hydration and temperature on the rheological properties of plant cuticles and their impact on plant organ integrity. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24(2), 116-126.

<https://doi.org/10.1007/s00344-004-0015-5>

Esau, K. (1965). *Anatomy of Seed Plants*. John Wiley and Sons, Inc.

Firetti-Leggieri, F., Lohmann, L. G., Semir, J., Demarco, D., & Castro, M. M. (2013).

Using leaf anatomy to solve taxonomic problems within the *Anemopaegma arvenses* species complex (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *Nordic Journal of Botany*, 32(5), 620-

631. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2013.00275.x>

Flores-Vindas, E. (1999). *La planta: estructura y función*. Libro Universitario Regional.

Franceschi, V. R., & Horner, H. T. (1980). Calcium oxalate crystals in plants. *The*

Botanical Review, 46(4), 361-427. <https://doi.org/10.1007/BF02860532>

Franceschi, V. (2001). Calcium oxalate in plants. *Trends in Plant Science*, 6(7), 331.

[https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(01\)02014-3](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(01)02014-3)

García-Mendoza, A. 1987. Monografía del género *Beschorneria* Kunth. Agavaceae. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Gentry, H. S & Sauck, J. R. (1978). The stomatal complex in *Agave*: groups Deserticolae, Campaniflorae, Umbelliflorae. *Proceedings of the California. Academy of Sciences*, 41, 371-387. <https://www.biodiversitylibrary.org/part/52356>

Giraldo-Cañas, D. (2017). Una nueva especie de *Agave* (Asparagaceae) de Colombia y una clave taxonómica para las especies sudamericanas. *Caldasia*, 39(1), 33-49.

<https://doi.org/10.15446/caldasia.v39n1.63318>

Gutiérrez, M.D., Miguel-Chávez, R.S., & Terrazas, T. (2009). Xylem conductivity and anatomical traits in diverse lianas and small tree species from a tropical forest of Southwest Mexico. *International Journal of Botany*, 5(4), 279-286.

Herbette, S., & Cochard, H. (2010). Calcium Is a Major Determinant of Xylem Vulnerability to Cavitation. *Plant Physiology*, 153(4), 1932-1939.

<https://doi.org/10.1104/pp.110.155200>

Hess, W. H., & Robins, L. (1996). *Yucca*. In Flora of North America Editorial Committee, (Eds.), *Flora of North America* (Vol. 26, pp. 423-440). Retrieved from

<http://www.efloras.org/florataxon.aspx>

Heyduk, K., Burrell, N., Lalani, F., & Leebens-Mack, J. (2016). Gas exchange and leaf anatomy of a C3–CAM hybrid, *Yucca gloriosa* (Asparagaceae). *Journal of Experimental Botany*, 67(5), 1369-1379. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv536>

Heyduk, K., Ray, J. N. y Leebens-Mack, J. (2020). Leaf anatomy is not correlated to CAM function in a C3+CAM hybrid species, *Yucca gloriosa*. *Annals of Botany*, 127(4), 437-449. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa036>

Hu, Y., Yang, L., Gao, C., Liao, D., Long, L., Qiu, J., Wei, H., Deng, Q., & Zhou, Y. (2022). A comparative study on the leaf anatomical structure of *Camellia oleifera* in a low-hot valley area in Guizhou Province, China. *PLoS One*, 17(1), e0262509. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262509>

Jin, Y., Chang, J., Shi, Y., Zhang, Q., & Xia, C. (2022). Effects of drought stress on growth, photosynthesis and ultrstructure of mesophyll cell of *Ulmus szechuanica* fang seedlings. *Bangladesh Journal of Botany*, 51(3), 461-468. <https://doi.org/10.3329/bjb.v51i3.61992>

Johansen, D. A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Education.

Jolly, A. L., Zailaa, J., Farah, U. M. A., Woojuh, J., Libifani, F. M., Arzate, D. M., Caranto, C. A., Correa, Z., Cuba, J., Calderon, J. D., Garcia, N. L., Gastelum, L., Gutierrez, I. R., Haro, M. S., Orozco, M., Pinlac, J. L., Miranda, A., Nava, J., Nguyen, C., Pedroza, E., Perdomo, J., Pezzini, S., Yuen, H., & Scoffoni, C. (2021). Leaf venation and morphology help explain physiological variation in *Yucca brevifolia* and *Hesperoyucca whipplei* across microhabitats in the Mojave Desert, CA. *Frontier in Plant Science*. 11:578338. doi: 10.3389/fpls.2020.578338.

Klimko, M., Nowińska, R., Wilkin, P., & Wiland-Szymańska, J. (2018). Comparative leaf micromorphology and anatomy of the dragon tree group of *Dracaena* (Asparagaceae) and

their taxonomic implications. *Plant Systematics and Evolution*, 304(8), 1041-1055.

<https://doi.org/10.1007/s00606-018-1530-3>

Konno, K., Inoue, T., & Nakamura, M. (2014). Synergistic defensive function of raphides and protease through the needle effect. *PLoS One*, 9(3), e91341.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091341>

Lenz, L. W. (1998). *Yucca capensis* (Agavaceae, Yuccoideae), a new species from Baja California Sur, Mexico. *Cactus and Succulent Journal*, 70(6), 289-296.

Lenz, L., y Hanson, M. (2000). Typification and change in status of *Yucca schottii* (Agavaceae). *Aliso*, 93-98. <https://doi.org/10.5642/aliso.20001901.07>

Lindorf, H., Parisca, L., y Rodríguez, P. (1991). *Botánica. Clasificación, estructura, reproducción*. Ediciones de la Biblioteca, Caracas.

McCledon, J. F. (1908). On xerophytic adaptations of leaf structure in *Yucca*, *Agave* and *Nolina*. *American Naturalist*, 42, 306-308. <https://doi.org/10.1086/278939>

McKain, M. R., Wickett, N., Zhang, Y., Ayyampalayam, S., McCombie, W. R., Chase, M. W., Pires, J. C., Pamphilis, C. W., & Leebens-Mack, J. (2012). Phylogenomic analysis of transcriptome data elucidates co-occurrence of a paleopolyploid event and the origin of bimodal karyotypes in Agavoideae (Asparagaceae). *American Journal of Botany*, 99(2), 397-406. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100537>

McKelvey, S. D. (1938). *Yuccas of the southwestern United States I*. Arnold Arboretum, Jamaica Plain.

McKelvey, S. D. (1947). *Yuccas of the southwestern United States* 2. Arnold Arboretum, Jamaica Plain.

Matuda, E. y Piña, L. (1980). Las plantas mexicanas del género *Yucca*. Serie Fernando de Alva Ixtlilxóchitl, Colección Miscelánea Estado de México.

McLaughlin, S. W., & Schuck, S. M. (1991). Fiber properties of several species of Agavaceae from the Southwestern United States and Northern Mexico. *Economic Botany*, 45(4), 480-486. <https://doi.org/10.1007/bf02930710>

Metcalfe, C.R., y Chalk, L. (1950) *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1. Clarendon Press.

Metcalfe, C.R., y Chalk, L. (1979). *Anatomy of the Dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem*. Vol. 1. (2 ed). Clarendon Press.

Monje, P., & Baran, E. J. (2010). Characterization of calcium oxalate biominerals in some (non-Cactaceae) succulent plant species. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 65(7-8), 429-432. <https://doi.org/10.1515/znc-2010-7-801>

Murillo-Serna, J. S., Rincón-Barón, E. J., & Alzate-Guarín, F. (2018). Anatomía foliar comparativa de tres especies de *Furcraea* (Asparagaceae: Agavoideae). *Hoehnea*, 45(4), 607-615. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-06/2018>

Patil, D. A. & Pai, R. M. (2006). The floral anatomy of *Yucca gloriosa* L. (Agavaceae) with a note on taxonomic position of the genus. *Journal of Phytological Research*, 19(2), 209-214.

Pellmyr, O., Seagraves, K. A., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M., y Leebens-Mack, J. (2007). The phylogeny of yuccas. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2), 493-501. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.12.015>

Plants of the World Online (2022). *Kew Science*. <https://powo.science.kew.org/>

Plaza, M. R. (2021). Finding the source of divergent selection on Joshua trees with genome wide data and linkage mapping. Master of Science in Biology dissertation. California State University, Northridge.

Prychid, C. J., & Rudall, P. J. (1999). Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. *Annals of Botany*, 84(6), 725-739. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0975>

Rasband, W. S. (2016). ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. <https://imagej.nih.gov/ij/>.

Reveal, J. L. (1977). *Yucca*. In A. Cronquist, A. H. Holmgren, N. H. Holmgren, J. L. Reveal & P. K Holmgren (Eds.), *Intermountain Flora. Vascular Plants of the Intermountain West*. (Volume 6: The Monocotyledons, pp. 527-536). Columbia University Press.

Riederer, M. (2007). Introduction: biology of the plant cuticle. In M. Riederer & C. Müller (Eds.), *Biology of the Plant Cuticle* (p. 2). Blackwell Publishing.

Robins, L. (1983). A systematic study of *Yucca* fleshy Chihuahuan Desert. PhD. Dissertation. Faculty of Texas Tech University.

Roux-López, J. (1964). Estudio morfológico de la epidermis de algunas xerófitas mexicanas. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Royer, A. M., Streisfeld, M. A., & Smith, C. I. (2016). Population genomics of divergence within an obligate pollination mutualism: Selection maintains differences between Joshua tree species. *American Journal of Botany*, 103(10), 1730-1741.

<https://doi.org/10.3732/ajb.1600069>

Rudall, P. J., Chen, E. D., & Cullen, E. (2017). Evolution and development of monocot stomata. *American Journal of Botany*, 104(8), 1122-1141.

<https://doi.org/10.3732/ajb.1700086>

Rzedowski, J. *Yucca potosina* sp. n. 1955. *Revista Hispano-Americana de Ciencias Puras y Aplicadas*, 55(4-5), 90-91.

Sánchez-Manzo, A. (2020). *Ornamentación y composición química de la cutícula foliar de Yucca (Asparagaceae, Agavoideae)*. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.

Sandoval-Zapotitla, E., Terrazas, T., y Vallejo, A. (2003). Análisis fenético de caracteres anatómicos-foliar de *Trichocentrum* y géneros relacionados (Orchidaceae, *Oncidiinae*). *Lankesteriana*, 7(2), 51-53.

- Shah, G. L., & Gopal, B. V. (1970). Structure and development of stomata on the vegetative and floral organs of some Amaryllidaceae. *Annals of Botany*, 34(3), 737-749. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084406>
- Simpson, P. G. S. (1975). *Anatomy and Morphology of the Joshua Tree (Yucca brevifolia)*. Ph.D. Dissertation. University of California, Santa Barbara.
- Smith, S. D., & Ludwig, J. A. (1978). The distribution and phytosociology of *Yucca elata* in Southern New Mexico. *The American Midland Naturalist*, 100(1), 202–212. <https://doi.org/10.2307/2424790>
- Smith, C., Pellmyr, O., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M., Leebens-Mack, J., & Segraves, K. A. (2008). Pattern and timing of diversification in *Yucca* (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1632), 249-258. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1405>
- Solano, E. (2000). Sistemática del género *Polianthes* L. (Agavaceae). Tesis de doctorado, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Solano, E., Terrazas, T., & González-Becerril, A. (2013). Comparative anatomy of the stem, leaf and inflorescence basal axis of *Polianthes* L. (Asparagaceae, Agavoideae) species. *Feddes Repertorium*, 124(4), 105-115. <https://doi.org/10.1002/fedr.201300017>
- Solano, E., Terrazas, T., Reyes-Rivera, J., & Serrano-Casas, H. (2017). Anatomía comparativa de raíz, tallo, hoja y base del pedúnculo de *Manfreda* (Asparagaceae: Agavoideae). *Revista Mexicana De Biodiversidad*, 88(4), 899-911. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.019>

Starr, T. N., Gadek, K. E., Yoder, J. B., Flatz, R., & Smith, C. I. (2012). Asymmetric hybridization and gene flow between Joshua trees (*Agavaceae: Yucca*) reflect differences in pollinator host specificity. *Molecular Ecology*, 22(2), 437-449.

<https://doi.org/10.1111/mec.12124>

Stephanou, M., & Manetas, Y. (1997). The effects of seasons, exposure, enhanced UV-B radiation, and water stress on leaf epicuticular and internal UV-B absorbing capacity of *Cistus creticus*: a Mediterranean field study. *Journal of Experimental Botany*, 48(11), 1977-1985. <https://doi.org/10.1093/jxb/48.11.1977>

Stevens, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017.

<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

Tadokoro, M., Ozawa, Y., Mitsumi, M., Toriumi, K., & Ogura, T. (2005). Raphide crystal structure in *Agave t equilana* determined by X-ray originating from synchrotron radiation. *Chemistry Letters*, 34(2), 236-237. <https://doi.org/10.1246/cl.2005.236>

Taia, W. K. (2020). Thinking in the Future of Plant Taxonomy. *International Journal of Contemporary Research and Review*, 11(01), 20212-20218.

<https://doi.org/10.15520/ijcrr.v11i01.776>

Takhtajan, A. (1980). Outline of the classification of flowering plants (magnoliophyta).

Botanical Review, 46(3), 225-359. <https://doi.org/10.1007/bf02861558>

Thadeo, M., Azevedo, A.A. & Meira, R.M.S.A. (2014). Foliar anatomy of neotropical Salicaceae: potentially useful characters for taxonomy. *Plant Systematic Evolution*, 300, 2073–2089. <https://doi.org/10.1007/s00606-014-1037-5>

Tomlinson, P. B. (1974). Development of the stomatal complex as a taxonomic character in the monocotyledons. *Taxon*, 23, 109-128.

Trelease, W. (1902). The Yuccae. *Missouri Botanical Garden Annual Report*, 13, 27–133.
<https://doi.org/10.2307/2400121>

Verhoek-Williams, S. (1998). Agavaceae. *En* K. Kubitzki (Ed.), The families and genera of vascular plants: flowering plants monocotyledons Lillanae (except Orchidaceae), Vol. III. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-03533-7_8

Vislobokov, N. A., Fu, L., Wei, Y., & Nuraliev, M. S. (2021). Leaf epidermal micromorphology in *Aspidistra* (Asparagaceae): diversity and taxonomic significance. *PhytoKeys*, 185, 65-86. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.185.72259>

Vogel, S. (1970). Convective cooling at low air speed and the shape of broad leaves. *Journal of Experimental Botany*, 21(1), 91-101.

Ward, D. B. (2012). *Yucca filamentosa* and *Yucca flaccida* (Agavaceae) are distinct taxa in their type localities. *Castanea*, 76(2), 222-228. <https://doi.org/10.2179/10-017.1>

Wattendorff, J. (1975). A third type of raphide crystal in the plant kingdom: Six-sided raphides with laminated sheaths in *Agave americana* L. *Planta*, 130, 303–311
<https://doi.org/10.1007/bf00387837>

Weatherwax, P. (1956). *Botany* (3.^a ed.). W.B. Saunders Company.

Webb, R. H., & Starr, G. (2015). Gentry Revisited: The Agaves of the Peninsula of Baja California, México. *Haseltonia*, 20, 64-108. <https://doi.org/10.2985/026.020.0101>

Weber, M.J. (1953). *Yucas of the Southwest*. U.S. Dept. of Agriculture. *Agriculture monograph*, 17, 1-97.

Wiedemann P., & Neinhuis, C. (1998). Biomechanics of isolated plant cuticles. *Botanica Acta*, 111, 28–34. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1998.tb00673.x>

Yeats, T. H., & Rose, J. K. (2013). The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiology*, 163(1), 5-20. <https://doi.org/10.1104/pp.113.222737>

Yousaf, Z., Shinwari, Z. K., Asghar, R., & Parveen, A. (2008). Leaf epidermal anatomy of selected *Allium* species, family Alliaceae from Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 40(1), 77-90. <http://agris.fao.org/openagris/search.do?recordID=PK2010000897>

Zambrano, V., Lawson, T., Olmos, E., Fernández-García, N., & Borland, A. M. (2014). Leaf anatomical traits which accommodate the facultative engagement of crassulacean acid metabolism in tropical trees of the genus *Clusia*. *Journal of Experimental Botany*, 65(13), 3513-3523. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru022>

Apéndice 1. Especies estudiadas, tipo de hábitat en el que se establecen y datos de los especímenes utilizados.

Especie	Hábitat	Recolector, número de recolecta, colección
<i>Y. capensis</i> L.W. Lenz	Bosque tropical caducifolio	E. Solano 5879, 5880 FEZA
<i>Y. elata</i> (Engelm.) Engelm.	Matorral xerófilo	1991-0619-10 DES
<i>Y. filifera</i> Chabaud	Matorral xerófilo Bosque tropical caducifolio	E. Solano 4978; R. Ríos 1866 FEZA
<i>Y. madreensis</i> Gentry	Bosque de encino, Bosque de pino	E. Solano 5604, 5605 FEZA
<i>Y. potosina</i> Rzed.	Matorral xerófilo	E. Solano 4962a, 4962b FEZA
<i>Y. schottii</i> Engelm.	Bosque de encino, Bosque de pino	E. Solano 5607, 5608 FEZA
<i>Y. torreyii</i>	Matorral xerófilo	E. Solano 5598, 5599 FEZA
<i>Y. treculeana</i>	Matorral xerófilo, Bosque tropical caducifolio	E. Solano 4966, 5594 FEZA
<i>Y. valida</i> Brandegees	Matorral xerófilo	R. Ríos 1836, 1837 FEZA
<i>Y. verdiensis</i> McKelvey	Bosque de pino	K. Clary s/n DES

Datos del tipo de hábitat fueron consultados en: McKelvey, 1947; Matuda y Piña, 1980; Hess y Robins, 1996; Lenz, 1998; y observado durante las recolectas en campo. DES: Desert Botanical Garden, FEZA: Herbario de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

CAPÍTULO III

***YUCCA MUSCIPULA* (ASPARAGACEAE,
AGAVOIDEAE),
A NEW SPECIES FROM CENTRAL MEXICO**



Yucca muscipula (Asparagaceae, Agavoideae), a new species from central Mexico

MARÍA M. AYALA-HERNÁNDEZ^{1,3*}, RAMIRO RÍOS-GÓMEZ^{1,4}, ELOY SOLANO^{1,5} & ABISAI GARCÍA-MENDOZA^{2,6}

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Unidad de Investigación en Sistemática Vegetal y Suelo, Batalla 5 de mayo s/n, Ejército de Oriente, Ciudad de México, 09230, México.

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, Jardín Botánico, Tercer circuito exterior de Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México, 04510, México.

³ airamagay@yahoo.com.mx; <https://orcid.org/0000-0003-4036-0820>

⁴ riosarana44@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3466-3887>

⁵ solacael@yahoo.com.mx; <https://orcid.org/0000-0001-7742-2584>

⁶ abisai@ib.unam.mx; <https://orcid.org/0000-0002-0284-5117>

*Author for correspondence

Abstract

Yucca muscipula is described and illustrated as a new species endemic to the Barranca de Metztitlán Biosphere Reserve, Hidalgo, Mexico. This species is morphologically related to *Y. mixtecana* but is shorter, has a stem that lacks branching, and has glaucous leaves that are linear, with papillae on both surfaces and an entire margin, separating into recurved filaments. When dry, the leaves of *Y. muscipula* persist in the distal portion of the stem after the first flowering. It can grow sympatrically with *Y. filifera*, that also has a pendulous inflorescence and papillose filaments across entire surface, but from which it differs in several traits including glabrous branches, and larger flowers and fruits.

Resumen

Se describe e ilustra *Yucca muscipula* como especie nueva endémica de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México. Esta especie se relaciona morfológicamente con *Y. mixtecana*, pero difiere de esta por tener una menor altura, tallo sin ramificarse, hojas glaucas, lineares, con papilas en ambas superficies y margen entero separándose en filamentos recurvados. Cuando secas, las hojas persisten en la porción distal del tallo después de la primera floración. *Y. muscipula* puede crecer simpátricamente con *Y. filifera*, que también tiene una inflorescencia péndula y filamentos con papilas en toda su superficie, pero de la que difiere en varios rasgos, como ramas de la inflorescencia glabras, flores y frutos más grandes.

Keywords: Agavaceae, Hidalgo, *Sarcocarpa*, Sierra Madre Oriental

Introduction

Yucca Linnaeus (1753: 319) belongs to the family Asparagaceae, subfamily Agavoideae (APG IV, 2016). The type species of this genus is *Y. aloifolia* Linnaeus (1753: 319), which was designated by Britton & Shaffer (1908: 151). Linnaeus placed this species in the class Hexandria, order Monogynia. *Hesperoyucca* (Engelm.) Baker (1892: 8) was later proposed as a separate genus from *Yucca*. Clary (1997) analyzed the phylogeny of *Yucca* based on molecular, morphological, phenological and biogeographic characters, and only recognized *Yucca*. According to the type of fruit, Engelmänn (1871) distinguished three sections, *Clistocarpa* Engelmänn (1871: 496), *Chaenocarpa* Engelmänn (1871: 496), and *Sarcocarpa* Engelmänn (1871: 496) and two subgenera, *Euyucca* Engelmänn (1871: 496) and *Hesperoyucca* Engelmänn (1871: 497). McKelvey (1938, 1947) divided the genus into four sections: *Clistocarpa*, *Chaenocarpa*, *Hesperoyucca* and *Sarcocarpa* and proposed nine series based on floral and leaf characteristics. Species of section *Sarcocarpa* have fleshy and indehiscent fruits divided into three series: *Baccatae* McKelvey (1938: 13), *Faxonianae* McKelvey (1938: 13) and *Treculeanae* McKelvey (1938: 13). Matuda and Piña (1980) supported Engelmänn's

classification modified by McKelvey (1938, 1947) to classify the *Yucca* species distributed in Mexico, recording 14 species for the series *Treculeanae*. Following this study five more species have been described: *Y. queretaroensis* Piña (1989: 52), *Y. linearifolia* Clary (1995: 394), *Y. capensis* Lenz (1998: 289), *Y. mixteca* García-Mendoza (1998: 1) and *Y. pinicola* Zamudio (2020: 158), as well as the one described here. Based on morphological and molecular characters, these sections were shown to be nonmonophyletic (Clary 1997, Smith *et al.* 2008).

Yucca is distributed from southern Canada to Guatemala, mainly in the arid and semiarid zones of the United States of America and Mexico (García-Mendoza 1995, Clary 1997). The number of species of this genus varies depending on the criteria used by different authors, and 32 to 51 species are recognized (Espejo-Serna & López-Ferrari 1993, Thiede 2020, POWO 2021). These plants are pollinated by moths of the genera *Tegeticula* Zeller (1873: 232) and *Parategeticula* Davis (1967: 63), mainly by *T. yuccasella* Riley (1873: 56). However, some species have a specific pollinator, such as *Yucca elata* (Engelm.) Engelm. (1882: 17) pollinated by *Tegeticula elatella* Pellmyr (1999: 261) and *Y. brevifolia* Engelm. (1871: 496) by *T. synthetica* Riley (1892: 141), while *Y. jaegeriana* (McKelvey) Lenz (2007: 99) is pollinated by *T. antihetica* Pellmyr (2003: 718). Most of the species of the section *Sarcocarpa* are distributed in Mexico (Matuda & Piña, 1980).

Yuccas are perennial and succulent plants with poorly or well-developed stems. Their leaves are grouped at the apex of the stem, they are sword-shaped and sometimes linear. Their flowers are grouped in racemes or panicles; most species have white tepals, whereas in a few they become purple, whitish-green, whitish with pink, reddish or greenish apex. The fruits can be fleshy or dry, dehiscent or indehiscent with numerous blackish seeds (Hess & Robins 1996, García-Mendoza 2011).

Many species of *Yucca* are economically important. The plants are used as living fences and windbreaks; their fibers are extracted from the leaves to make twines, baskets and other utensils; and their fruits and flowers are edible (Matuda & Piña 1980, Sheldon 1980, Bartlett 2019). The roots, stems, leaves, shoots, flowers and seeds of several species such as *Y. schidigera* Ortgies (1871: 110) and *Y. gloriosa* Linnaeus (1753: 319) contain antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiabetic and hypocholesterolemic compounds, among others (Cheeke *et al.* 2006, Patel 2012).

In the present study, we describe and illustrate a new species of the genus *Yucca* from xeric scrub in the state of Hidalgo, Mexico, which contributes to the knowledge of one of the most emblematic succulent monocotyledonous genera with a high percentage of endemism, present in arid zones and semi-arid areas of Mexico and the United States of America.

Materials and methods

During the systematic review of *Yucca* carried out by the authors of this article, field work was realized in the southwestern United States of America and Mexico were explored botanically. In the state of Hidalgo, Mexico, individuals of this genus with different characteristics from the species already described by other authors were observed. In the field, the type of soil, vegetation, elevation, geographic coordinates and associated species were recorded. In addition to the height of the individuals, the color of the main stem, the persistence of the dry leaves, the color of the mature leaves, the base, flowers, peduncle and floral branches, the type of inflorescence and its orientation were recorded. In the herborized specimens and those stored in 96% ethyl alcohol, the vegetative and reproductive characters were recorded and compared between the new species described here and others, particularly *Y. mixteca* and *Y. filifera* because its morphology is similar to the first species, and with the second it grows sympatrically (Table 1). An illustration was prepared, and the collection locations were georeferenced to develop a geographical distribution map. The risk category was determined based on Criteria B1, extent of occurrence (EOO) and B2, area of occupancy (AOO) of the International Union for Conservation of Nature (IUCN 2019).

Description of the new species

Yucca muscipula M. Ayala-Hern., Ríos-Gómez, E. Solano & A. García-Mend., *sp. nov.* (Figs. 1, 2).

Yucca muscipula is morphologically similar to *Yucca mixteca* and to a few branched individuals of *Y. filifera*, from which it differs in the unbranched stem, and longer leaves that are persistent on the distal portion of the stem after the first flowering. Its tepals are 4–5 cm long, with the outer ones being 1.0–1.5 cm wide and the inner ones being 1.4–2.0 cm wide. Its filaments are 1.8–2.8 cm long and papillose, while its ovary is 1.8–2.3 cm long and 3.3–6.3 mm in diameter; the fruit and seeds are larger than those of *Y. filifera*.

TABLE 1. Morphological differences, geographic distribution, phenology and habitat of *Yucca muscipula* and *Y. mixtecana* and *Y. filifera*. Data of *Y. mixtecana* are from García-Mendoza (1998, 2011). Data of *Y. filifera* are from Matuda & Piña (1980), Rentería (2000), and Galván (2005).

Character	<i>Yucca muscipula</i>	<i>Y. mixtecana</i>	<i>Y. filifera</i>
Stem	2–4 m, simple	2.5–5 m, simple or branched	Up to 10 m, simple or branched, mostly in old plants
Persistence of dry leaves on the stem	Deciduous in the basal portion, and persistent in the distal half in individuals after the first flowering	Deciduous	Persistent
Leaves margin	Glaucous Filiferous, recurved filaments	Glaucous Entire, rarely filiferous, straight filaments	No glaucous Filiferous, recurved filaments
Papillae	Present	Absent	Absent
Inflorescence	Panicle pendulous, 80–110 cm, glabrous	Panicle erect, 50–80 cm, puberulent	Panicle pendulous, until 150 cm, glabrous, peduncle and pedicels rarely pilose
Flowers	Campanulate, pendulous	Campanulate, pendulous	Extended, pendulous
Tepals	3.8–5.0 × 1.0–1.5 cm	2–3 × 0.4–0.7 (1.0) cm	3.8–5.2 × 0.7–2.5 cm
Filaments	1.8–2.8 cm long	1.0–2.0 cm long	1.0–1.5 cm long
Papillae	Across the entire surface	In two marginal lines	Across the entire surface
Gynoecium	2.1–2.9 cm long	1.5–2.0 (–3.0) cm long	2.3–2.5 cm long
Carpelar depressions	Little deep	Very deep	Very deep
Fruit	8.5–11.7 × 2.5–3.2 cm	3.0–8.0 × 2.0–2.5 cm	5.0–8.8 × 2.7–3.3 cm
Seeds	8.0–10.0 × 6.0–7.0 mm	5.0–7.0 × 5.0–6.0 mm	6.0–8.0 × 2.0–5.0 mm
shape	Prismatic	Prismatic	Oblong
Geographical distribution	Barranca de Metztlán, Hidalgo, Mexico	Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla and Oaxaca, Mexico	Broad range, mainly in the Eastern portion of the Mexican Plateau and the transition with the Sierra Madre Oriental and the Transmexican Volcanic Belt
Elevation	1294–1350 m	1370–2200 m	500–2400 m
Phenology	Flowers from April to July, fruits from June to August	Flowers from March to May, fruits from July to September	Flowers from March to August, fruits from June to October
Habitat	Xeric scrubland, thorn forest	Xeric scrubland, deciduous tropical forest	Xeric scrubland

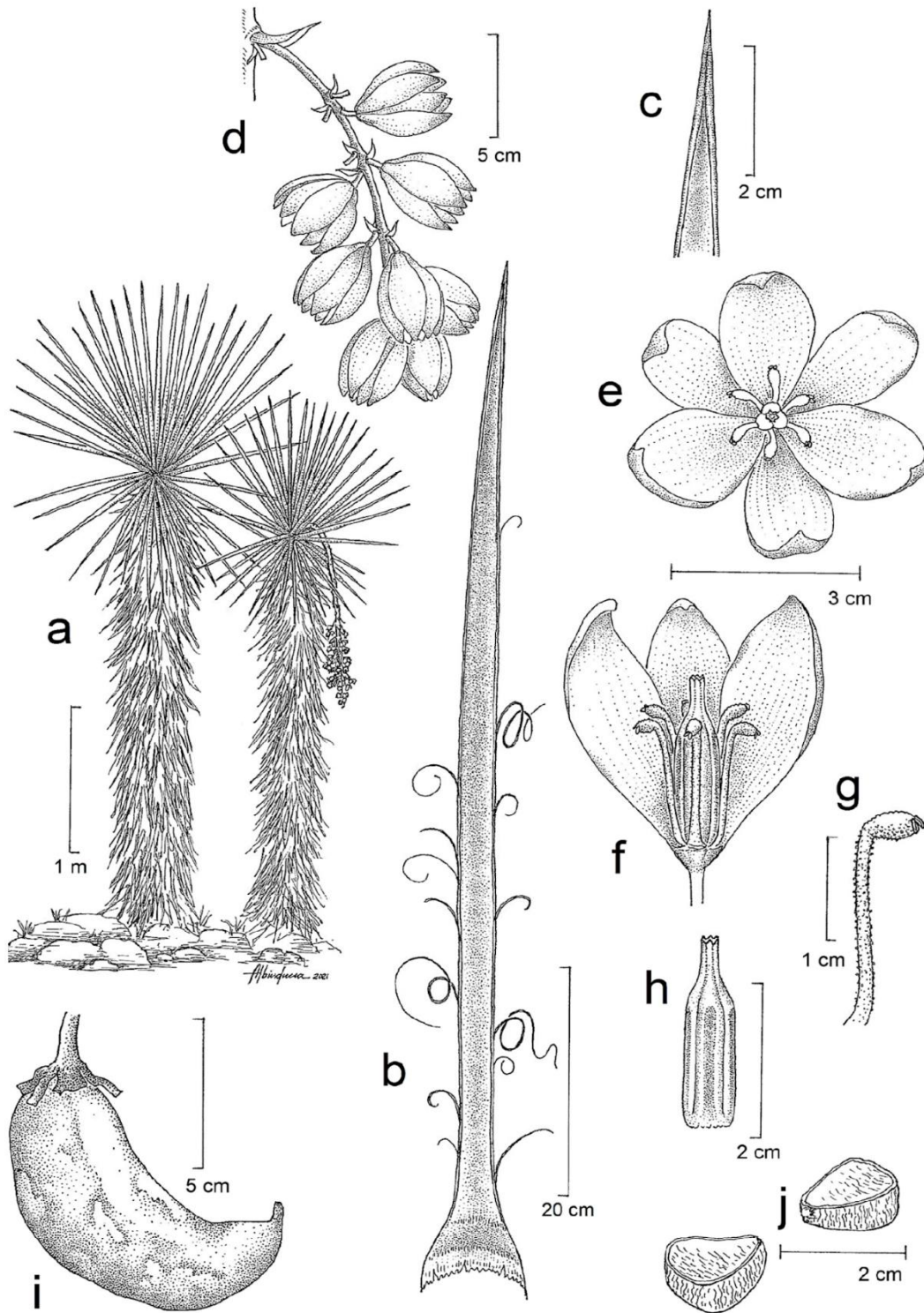
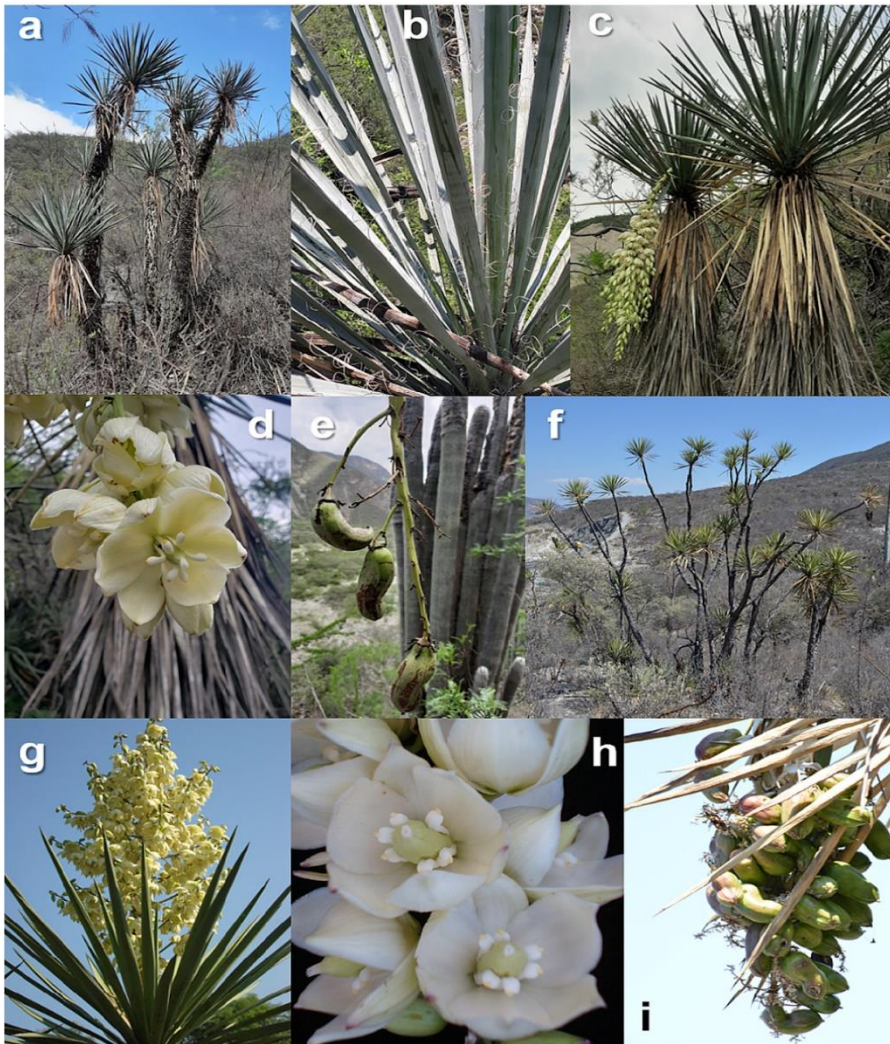


FIGURE 1. *Yucca muscipula*: a) complete plant, b) leaf, c) apex leaf, d) branch inflorescence, e) flower, f) dissected flower, g) stamen, h) gynoecium, i) fruit, j) seeds. Illustration by Albino Luna Sánchez.



Yucca muscipula: a) plants, b) leaves with margin filaments, c) plants with inflorescence, d) flowers, e) fruits. *Y. mixtecana*: f) inflorescence, h) flowers, i) fruits (photos: R. Ríos-Gómez, a, c and e; E. Solano, b and d; A. García-Mendoza, f-i).

MEXICO. Hidalgo: Municipality Metztitlán, highway San Juan Metztitlán-Zoquizoquipan, approximately 10 km east from San Juan Metztitlán, xeric scrubland, 1320 m, 26 Jun 2021 (fl), R. Ríos-Gómez *et al.* 2046 EXU!; *Isotypes*: CIIDIR!, DES!, FEZA!, UAMIZ!).

Proserpate, iteroparous, 2–4 m tall, rarely surculose. Stem simple, cylindrical, dry leaves persistent in the case of individuals after the first flowering. Rosette leaves at the apex of the stems, linear, 63.5–82.6 cm long, 1.5–2.5 cm wide in the middle portion, ascending to appressed, coriaceous, glaucous, papillate on both surfaces, filiferous, the filaments recurved, gray; terminal spine 0.6–1.0 cm long, brown, ribbed, conical, base usually white, distal portion reddish-brown. Inflorescence paniculate, pendulous, 80–110 cm long, rachis simple, once branched, branches 10–17 cm long, glabrous; bracts lanceolate, 7–14 cm long, 1–2 cm wide in the middle portion, yellowish-white, papyraceous, base reddish-brown, truncated, margin entire, apex acuminate. Flowers whitish, greenish-white or yellowish-white, pedicels 1.0–1.8 cm long, ascending, rarely arched, terete, internal tepals 3.9–5.0 cm long, 1.0–1.5 cm wide, ovate-elliptical, base attenuate, margin entire, apex acute, external tepals similar to the external ones but wider, 1.4–2 cm wide; filaments flattened, the apical portion thickened, yellow; anthers yellow, 1.5–2.3 mm long, sagittate, exserted; ovary 1.8–2.5 cm long, 3.3–6.3 mm diameter, with slightly sunken carpels, septa prominent, green, style short; stigma 3-lobed, lobes 3.5–5.0 mm long, with scattered papillae. Fruits baccate, 8.0–11.7 cm long, 2.5–3.2 cm diameter, cylindrical, pendulous,

arched above the middle, crowned by the remains of the dried perianth, fleshy, indehiscent. Seeds 0.8–1.0 cm long, prismatic, slightly rough, black, dull; endosperm ruminated.

Geographical distribution and habitat:—Endemic to the municipality of Metztlán, Hidalgo, Mexico; in xeric scrublands and thorny forests with *Acacia farnesiana* (L.) Willdenow (1806: 1083), *Agave striata* Zuccarini (1833: 678), *A. xylonacantha* Salm-Reifferscheid-Dyck (1859: 92), *Bursera* Jacquin ex Linnaeus (1762: 471), *Cephalocereus senilis* (Haw.) Pfeiffer (1838: 142), *Cnidoscolus multilobus* (Pax) Johnston (1923: 86), *Fouquieria splendens* Engelman (1848: 98), *Jatropha dioica* Sessé (1794: 4), *Mimosa* Linnaeus (1753: 516), *Myrtillocactus geometrizans* Console (1897: 10), *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Johnston (1962: 78) and *Yucca filifera* Chabaud (1876: 432); on lithic leptosols and regosols at elevation 1294–1350 m (Fig. 3).

Phenology:—*Yucca muscipula* flowers from April to July and fruits from June to August.

Additional specimens examined (paratypes):—MEXICO. Hidalgo: Metztlán Municipality, La Paila de Anáhuac, 1322 m, 17 April 2021, *R. Ríos-Gómez et al.* 2038 (FEZA); San Juan Metztlán, 1294 m, 26 June 2021, *R. Ríos-Gómez et al.* 2047 (FEZA); Banks of the Pía Sapa stream, 3 km from San Juan Metztlán, 1350 m, 6 July 2021, *R. Ríos-Gómez* 2048 *et al.* (FEZA).

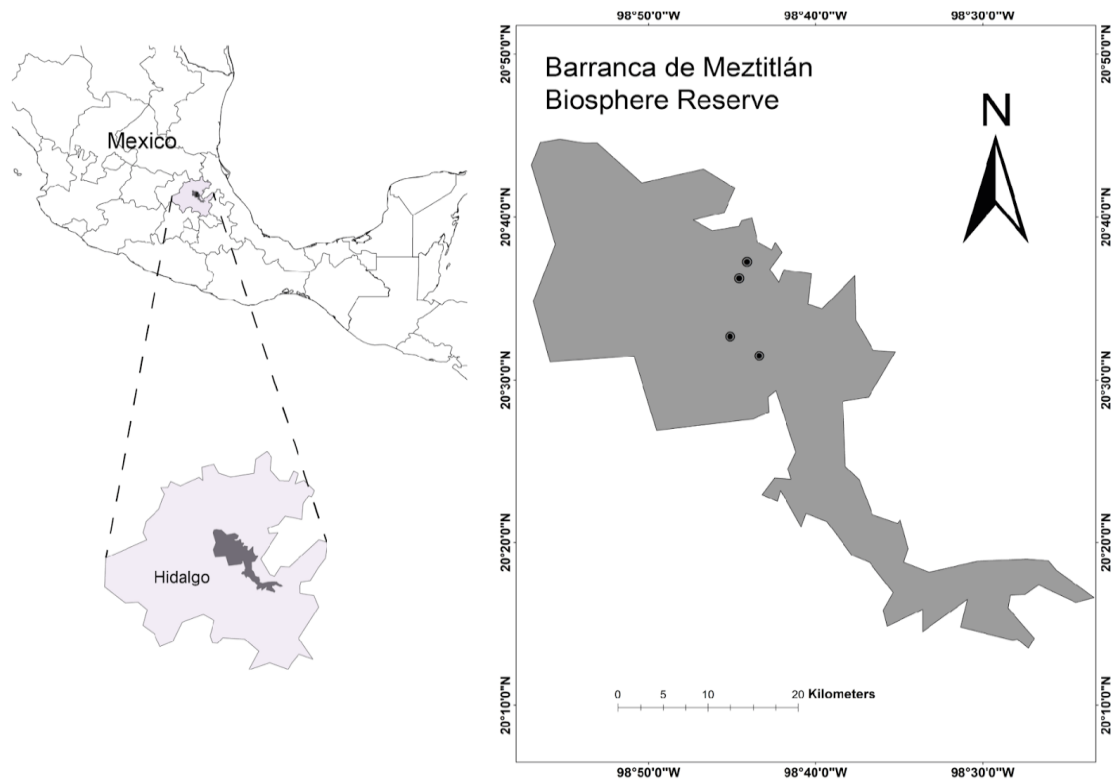


FIGURE 3. Geographic distribution of *Yucca muscipula* in Hidalgo, México.

Etymology:—The epithet is derived from the common name by which this plant is known in the type locality, “mousetrap palm” (mousetrap = *muscipula*).

Uses:—The whole plant is used to establish living fences and the flowers are edible.

Conservation status:—*Yucca muscipula* is Critically Endangered according to IUCN criterion B1, since it covers an extent of occurrence (EOO) of <100 km² and Endangered based on criterion B2, because the area of occupancy (AOO) covers <500 km². This species is restricted to four locations in the Barranca de Metztlán Biosphere Reserve and its populations occupy 1.7% of its surface, which is 96,042 ha. In addition, it forms localized populations with few individuals in habitats close to rural human settlements and roads.

Discussion

Given the fleshy fruit of *Yucca muscipula*, this species is considered to belong to the *Sarcocarpa* section, series *Treculeanae*. This series is characterized by pistils of 2 to 3.25 cm, rarely up to 4 cm in length, short perianth tubes, filaments adnate to the base of the tepals, and fleshy fruits that rarely exceed 10.25 to 11.5 cm in length and 2.5 to 3.25 cm in diameter. We reviewed McKelvey (1938) and Matuda y Piña (1980), as well as the publication of the new species described after these studies, and with 20 species, *Treculeanae* contains the highest number of species (McKelvey 1938, Matuda & Piña 1980, Piña 1989, Clary 1995, Lenz 1998, García-Mendoza 1998, Zamudio 2020). Including the one described here, 13 of these species are endemic to Mexico. This new species is recognized because its stems do not branch; it has glaucous leaves that are papillose on both surfaces; the margin is entire, shedding in recurved filaments; the inflorescence is pendulous, once branched, with glabrous rachis; and the flowers and fruits are larger. It is morphologically related to *Y. mixtecana*, which is distributed in the Valle de Tehuacán-Cuicatlán Biosphere Reserve.

Yucca muscipula is distributed in the Barranca de Metztitlán Biosphere Reserve, in the south of the Sierra Madre Oriental biogeographic region and the Southern Plateau, which are areas with high species richness and endemism (Rzedowski 1991, 2015, Salinas *et al.* 2017, Morrone 2019). Ten endemic species have been previously recorded in this protected natural area: *Cephalocereus senilis*, *Laelia gouldiana* Reichenbach (1888: 41), *Mammillaria hidalgensis* Purpus (1907: 118), *M. ingens* Backeberg (1942: 63), *M. polythele* Martius (1832: 328), *M. schiedeana* Ehrenberg (1838: 249), *M. wiesingeri* Boedeker (1933: 204), *Tillandsia mauryana* Smith (1937: 31), *Turbincarpus horripilus* (Lem.) John & Řiha (1983: 22) (CONANP 2003) and *Rogiera metztitlensis* Torres-Montúfar, E. Solano, Morales-Garduño & Ochoterena-Booth in Torres-Montúfar *et al.* (2019: 2). With the description of this new species, the number of endemic species increases to 11. There are only two known species of *Yucca* in the state of Hidalgo, Mexico: *Y. filifera* and *Y. muscipula*, which occur sympatrically.

Acknowledgements

The first author thanks the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología for the scholarship granted to carry out her doctoral studies (registration number: 210602), and the Posgrado en Ciencias Biológicas of the Universidad Nacional Autónoma de México for the training received. This study was financially supported by the Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, DGAPA, UNAM, Contract IN214318, led by the third author of this research. Albino Luna prepared the illustration, and Jorge García Bibian guided us during the field work. The authors also thank to Marie-Stéphanie Samain for her support in revising the manuscript.

References

- APG IV. (2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1–20.
<https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Backeberg, C. (1942) Neue Arten aus “Stachlige Wildnis. *Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis* 51: 63.
<https://doi.org/10.1002/fedr.19420510403>
- Baker, J.G. (1892) Agaves and Arborecent Liliaceae on the Riviera. *Bulletin of Miscellaneous Information* 61: 1–10.
<https://doi.org/10.2307/4102510>
- Bartlett, A.T. (2019) *Leaf fiber strength and fruit nutrient content of Yucca species native to the Navajo Nation*. MS Thesis, Brigham Young University, Utah, 27 pp.
- Boedeker, F. (1933) *Mammillaria wiesingeri* Boedeker spec. nov. *Kakteenkunde* 1933: 204.
- Britton, N.L. & Shafer, J.A. (1908) *North American Trees*. Henry Holt and Company, New York, 894 pp.
- Chabaud, J.B. (1876) Floraison Dún *Yucca filifera*. *Revue Horticole* (Paris) 48: 432–434.
- Cheeke, P.R., Piacente, S. & Oleszek, W. (2006) Anti-inflammatory and anti-arthritic effects of *Yucca schidigera*: A review. *Journal of Inflammation* 3: 1–7.
<https://doi.org/10.1186/1476-9255-3-6>

- Clary, K. (1995) *Yucca linearifolia* (Agavaceae): A new, indehiscent, fleshy-fruited, linear-leaved species endemic to the Chihuahuan Desert, Mexico. *Brittonia* 47 (4): 394–396.
<https://doi.org/10.2307/2807567>
- Clary, K. (1997) *Phylogeny, character evolution, and biogeography of Yucca L. (Agavaceae) as inferred from plant morphology and sequences of the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of the nuclear ribosomal DNA*. Ph.D. Thesis, University of Texas, Austin, 213 pp.
- CONANP. (2003) *Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán México*. Dirección General de Manejo para la Conservación, Tlalpan, México, D.F., 202 pp.
- Console, M. (1897) *Myrtillocactus*, nuovo genere di Cactaceae. *Bollettino delle Reale Orto Botanico di Palermo* 1: 8–10.
- Davis, D.R. (1967) A revision of the moths of the subfamily Prodoxinae (Lepidoptera: Incurvariidae). *Bulletin of the United States National Museum* 255: 1–170.
<https://doi.org/10.5479/si.03629236.255.1>
- Engelmann, G. (1848) Botanical Appendix. In: Wislizenus, F.A. (Ed.) *Memoir of a Tour to Northern Mexico: connected with Col. Doniphan's Expedition*. Tappin and Streeper, Washington, D.C., pp. 98–99.
- Engelmann, G. (1871) *Yucca* and *Hesperaloe*. In: *Watson's Botany of the Fortieth Parallel. Report of the United States Geological Exploration of the Fortieth Parallel*. Clarence King, Geologist in charge. V Supplement. Government Printing Office, Washington, pp. 496–497.
- Engelmann, G. (1882) Some notes in *Yucca*. *Botanical Gazette* 7: 17.
<https://doi.org/10.1086/325557>
- Ehrenberg, C. (1838) *Mammillaria Schiedeana* eine neue Urt aus Mexiko. *Allgemeine Gartenzeitung* 6: 249.
- Espejo-Serna, A. & López-Ferrari, A. (1993) *Las monocotiledóneas de México*. Consejo Nacional de la Flora de México, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D.F., pp. 76.
- Galván, R. (2005) *Yucca*. In: de Rzedowski, G.C. & Rzedowski, J. (Eds.) *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. pp. 1250.
- García-Mendoza, A. (1995) Riqueza y endemismos de la familia Agavaceae en México. In: Linares, E., Dávila, P., Chiang, F., Bye, R. & Elias, T.S. (Eds.) *Conservación de plantas en peligro de extinción: diferentes enfoques*. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., pp. 51–75.
- García-Mendoza, A. (1998) Una nueva especie de *Yucca* (Agavaceae) de Oaxaca y Puebla, México. *Acta Botanica Mexicana* 42: 1–5.
<https://doi.org/10.21829/abm42.1998.792>
- García-Mendoza, A. (2011) Agavaceae. In: Medina-Lemus, R. (Ed.) *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Vol. 88. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, México, D.F., pp. 1–95.
- Hess, W.J. & Robbins, R.L. (1996) *Yucca* Linnaeus. In: Flora of North America Editorial Committee (Ed.) *Flora of North America*. Vol. 26. Oxford University Press, New York, pp. 423–439.
- IUCN. (2019) *Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria*. Version 14. Prepared by the Standards and Petitions Committee. Available from: <https://www.iucnredlist.org/resources/categories-and-criteria> (accessed 10 August 2021).
- Johnston, I.M. (1923) Diagnoses and notes relating to the spermatophytes chiefly of North America. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 68: 86.
- Johnston, M.C. (1962) The North American mesquites *Prosopis* Sect. *Algarobia* (Leguminosae). *Brittonia* 14 (1): 72–89.
<https://doi.org/10.2307/2805322>
- John, V. & Říha, J. (1983) Formální příbuzné některých zástupců rodu *Gymnocactus* Backbg. do rodu *Turbinicarnus* (Backbg.) Buxb. et Backbg. (Unkombinationen aus *Gymnocactus* in die Gattung *Turbinicarpus*). *Kaktusy* 17: 15–18.
- Lenz, L.W. (1998) *Yucca capensis* (Agavaceae, Yuccoideae), a new species from Baja California Sur, Mexico. *Cactus and Succulent Journal* 70 (6): 289–296.
- Lenz, L.W. (2007) Reassessment of *Yucca brevifolia* and recognition of *Y. jaegeriana* as a distinct species. *Aliso* 24: 97–104.
<https://doi.org/10.5642/aliso.20072401.07>
- Linnaeus, C. (1753) *Species Plantarum*. Holmiae Impensis Laurentii Salvii, Stockholm, 1200 pp. Available from: <https://www.biodiversitylibrary.org/page/39403811> (accessed 10 August 2021).
- Linnaeus, C. (1762) *Species Plantarum*. Holmiae Impensis Laurentii Salvii, Stockholm, 471 pp. Available from: <https://www.biodiversitylibrary.org/page/11628925> (accessed 10 August 2021).
- Martius, C. (1832) Horticultural Regnum Monaco. *Novorum Actorum Academiae Caesareae Leopoldino-Carolinae Germanicae Naturae Curiosorum* 16: 328.
- Matuda, E. & Piña, I. (1980) *Las plantas mexicanas del género Yucca*. Serie Fernando de Alva Ixtlilxochitl. Miscelánea del Estado de México, Toluca, 145 pp.
- McKelvey, S.D. (1938) *Yuccas of the Southwestern United States*. Part I. Arnold Arboretum of Harvard University Press. Boston, 150

- pp.
- McKelvey, S.D. (1947) *Yuccas of the Southwestern United States*. Part II. Arnold Arboretum of Harvard University Press. Boston, 192 pp.
- Morrone, J.J. (2019) Regionalización biogeográfica y evolución biótica de México: enrucijada de la biodiversidad del Nuevo Mundo. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 90: e902980.
<https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2980>
- Ortgies, K.F. (1871) Bericht über die Reisen und Einhfürungen des Herrn B. Roezl in den Jahren 1869 und 1870. *Gartenflora* 20: 110.
- Patel, S. (2012) *Yucca*: A medicinally significant genus with manifold therapeutic attributes. *Natural Products and Bioprospecting* 2: 231–234.
<https://doi.org/10.1007/s13659-012-0090-4>
- Pellmyr, O. (1999) Systematic revision of the yucca moths in the *Tegeticula yuccasella* complex (Lepidoptera: Prodoxidae) north of Mexico. *Systematic Entomology* 24: 243–271.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-3113.1999.00079.x>
- Pellmyr, O. & Segraves, K. (2003) Pollinator Divergence within an Obligate Mutualism: Two *Yucca* Moth Species (Lepidoptera: Prodoxidae: *Tegeticula*) on the Joshua Tree (*Yucca brevifolia*; Agavaceae). *Annals of the Entomological Society of America* 96: 716–722.
[https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2003\)096\[0716:PDWAOM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2003)096[0716:PDWAOM]2.0.CO;2)
- Piña, I. (1989) Una nueva especie del género *Yucca* (Agavaceae). *Cactaceas y Suculentas Mexicanas* 34 (3): 51–56.
- Pfeiffer, L. (1838) Ueber Lemaire's Beschreibung einiger neuen Cacteen. *Allgemeine Gartenzeitung* 6: 142.
- POWO: Plants of the World Online. (2021) Available from: <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (accessed 7 August 2021).
- Purpus, C.A. (1907) *Mammillaria hidalgensis* Purpus spec. nov. *Monatsschrift für Kakteenkunde* 17: 379.
- Reichenbach, H.G. (1888) New or noteworthy plants. *The Gardeners' Chronicle* 3: 41.
- Rentería, A.L. (2000) "Dinámica del crecimiento de hojas, flores y frutos de *Yucca filifera* Chabaud y el efecto de *Tegeticula yuccasella* Riley sobre la producción de semillas en Linares, N.L., México" Tesis de Maestría en Ciencias Forestales, Universidad de Nuevo León, Nuevo León. 78 pp.
- Riley, C.V. (1873) On a new genus in the lepidopterous family Tineidae, with remarks on the fertilization of *Yucca*. *Transactions of the Academy of Science of Saint Louis* 3: 55–64.
- Riley, C.V. (1892) The yucca moths and *Yucca* pollination. *Missouri Botanical Garden Annual Report* 3: 99–158.
- Rzedowski, J. (1991) El endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. *Acta Botanica Mexicana* 15: 47–64.
<https://doi.org/10.21829/abm15.1991.620>
- Rzedowski, J. (2015) Catálogo preliminar de plantas vasculares de distribución restringida a la Sierra Madre Oriental. Fascículo complementario XXXI. In: *Flora del Bajío y de regiones adyacentes*. Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro Michoacán, 36 pp.
<https://doi.org/10.21829/fb.172.2015.XXXI>
- Salinas-Rodríguez, M.M., Estrada-Castillón, E. & Villarcal-Quintanilla, A.J. (2017) Endemic vascular plants of the Sierra Madre Oriental, Mexico. *Phytotaxa* 328: 1–52.
<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.328.1.1>
- Salm-Dyck, J. (1859) Bemerkungen über die Gattungen Agave und Fourcroya nebst Beschreibung einiger neuen Arten. *Bonplandia* 7: 92.
- Sessé, L.M. (1794) Discurso pronunciado en el Real Jardín Botánico el 2 de junio por el catedrático Don Vicente de Cervantes. *Gazeta de literatura de México* 3 (Suppl.): 4.
- Sheldon, S. (1980) Ethnobotany of *Agave lecheguilla* and *Yucca carnerosana* in Mexico's Zona Ixtlera. *Economic Botany* 34: 376–390.
<https://doi.org/10.1007/BF02858314>
- Smith, C.I., Pellmyr, O., Althoff, D.M., Balcázar-Lara, M., Leebens-Mack, J. & Segraves, K.A. (2008) Pattern and timing of diversification in *Yucca* (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proceedings of the Royal Society Serie B: Biological Sciences* 275: 249–258.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1405>
- Smith, L.B. (1937) Studies in Bromeliaceae. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 117: 1–33.
- Thiede, J. (2020) *Yucca* Agavaceae. In: Egli, U. & Nyffeler, R. (Eds.) *Monocotyledons Illustrated Handbook of Succulent Plants*, Springer, Berlin, pp. 363–421.
https://doi.org/10.1007/978-3-662-56486-8_109
- Torres-Montúfar, A., Solano, E., Morales-Garduño, L. & Ochoterena, H. (2019) Una especie nueva de *Rogiera* (Rubiaceae) de la zona árida de Metzquitlán, Hidalgo, México. *Acta Botanica Mexicana* 126: e1531.
<https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1531>

- Willdenow, C.L. (1806) *Species plantarum*. Editio Quarta 4 (2). Impensis G.C. Nauck, Berolini, pp. 1083–1084.
- Zamudio, S. & Aguilar-Gutiérrez, G. (2020) Dos especies nuevas de Asparagaceae (Agavoideae) de los estados de Guanajuato y Querétaro, México. *Brittonia* 72 (2): 154–163.
<https://doi.org/10.1007/s12228-020-09613-0>
- Zeller, P.C. (1873) Beiträge zur Kenntnis der nordamericanischen Nachtfalter, besonders der Microlepidopteren. *Verhandlungen der Kaiserlich-Königlichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien* 23: 201–334.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.9391>
- Zuccarini, J.G. (1833) Über einige Pflanzen aus den Gattungen *Agave* und *Fourcroya*. *Novorum Actorum Academiae Caesareae Leopoldino-Carolinae. Naturae Curiosorum* 16: 678.

Discusión general

Esta investigación respondió cómo se relacionan filogenéticamente las especies de *Yucca* que no se habían incluido en estudios anteriores, los cuales mostraban la monofilia del género, en el nivel subgenérico no recuperaron las secciones y las series basadas principalmente en el tipo fruto. Para contestar la pregunta se realizaron análisis de verosimilitud máxima e inferencia bayesiana con base en ADN de núcleo y del cloroplasto. Estos análisis conjuntamente se utilizaron 49 especies de *Yucca* que representan más del 90% de la riqueza del género y nueve especies de géneros cercanamente emparentados. Las hipótesis de Clary (1997) consideraron 45 especies de *Yucca* y ocho del grupo externo, mientras que las de Pellmyr et al. (2007) y Smith et al. (2008) incluyeron 38 y 34 taxones de *Yucca* respectivamente.

Dentro del clado ABK nuestro estudio concuerda en que *Yucca* y *Hesperoyucca* son géneros distintos. Otras investigaciones lo corroboran a partir de datos morfológicos (Baker, 1892; Clary, 2001), tipo de polen y polinizador (Clary, 2001; Seagraves y Pellmyr, 2001), anatómicos (Sánchez-Manzo, 2022; Verde, 2023) y datos moleculares (Bogler y Simpson, 1996; Clary, 1997; Bogler et al., 2006; Smith et al. 2008). Asimismo, *Hesperaloe* y *Hesperoyucca* son géneros hermanos al igual que *Agave* y *Beschorneria*, estas relaciones también se obtuvieron en otros análisis (Clary, 1997; Bogler et al., 2006).

Entre las especies de *Yucca* las relaciones filogenéticas resultantes del marcador nuclear son más parecidas a las de Clary (1997), que a las obtenidas por Pellmyr et al. (2007) y Smith et al. (2008). En este estudio *Yucca* está conformado por dos grupos, nombrados aquí clado *Aloifolia* y clado *Rupicola*. El clado *Aloifolia* incluye a las especies con fruto carnoso, además de *Y. flaccida*. Este clado es similar al obtenido por Clary (1997), y corresponde

prácticamente a la Sección *Sarcocarpa* de Engelmann (1871), renombrada por Clary como Sección *Yucca*, donde también está *Y. flaccida*. El clado *Aloifolia* está conformado por 26 especies que se distribuyen principalmente en México. La ubicación de *Y. flaccida* en este clado puede deberse a que *Y. gloriosa*, con la que está cercanamente relacionada (0.99 PP), tiene origen híbrido entre *Y. aloifolia*, una especie cuyo fruto es carnososo, y *Y. filamentosa* de fruto seco, ambas son cultivadas (Heyduck, 2021). De acuerdo con Hess y Robins (1996), *Y. flaccida* puede considerarse una variedad de *Y. filamentosa*, aunque según Clary (1997) y Ward (2011) se trata de dos taxones distintos.

El clado *Rupicola* está conformado por 18 especies con fruto seco, tanto dehiscente como indehiscente, y es equivalente a las dos secciones que Engelmann (1871) llamó *Chaenocarpa* y *Clistocarpa*. En la primera colocó especies con cápsulas dehiscentes, y en el segundo a las plantas de cápsulas indehiscentes. Los integrantes de este clado se establecen preferentemente en el norte de México y gran parte del sur de Estados Unidos de América. En las topologías de Clary (1997) las yucas con fruto seco son parafiléticas. De las series propuestas por McKelvey (1938; 1947) aquí se recuperó parcialmente a *Rupicolae*, que en filogenias anteriores (Clary (1997; Pellmyr et al., 2007) forma un grupo natural.

En este trabajo y el de Clary (1997), *Yucca queretaroensis* está emparentada con *Y. filifera* y otras especies del Desierto Chihuahuense, y no se ubica como la especie hermana del resto, como lo señalaron Pellmyr et al. (2007). Es probable que el espécimen utilizado por Pellmyr et al. (2007) como *Y. queretaroensis* se trate de otra especie, tal vez por situaciones relacionadas con la colecta o identificación.

Además de las relaciones filogenéticas de los dos clados, la topología muestra algunos subclados cuyas especies también se relacionan geográficamente. Por ejemplo, en el clado *Aloifolia*, uno de los subclados consiste en *Y. valida*, *Y. capensis* y *Y. schidigera*, estas especies habitan los desiertos de Sonora y Mohave. Otro, lo integran *Y. queretaroensis*, *Y. decipiens*, *Y. filifera*, *Y. potosina* y *Y. torreyi* distribuidas mayoritariamente en el Desierto Chihuahuense. Estas relaciones filogenéticas-geográficas también se observan en la investigación de Pellmyr et al. (2007). Uno de los subclados consiste en *Y. periculosa*-*Y. mixtecana* y *Y. guatemalensis*-*Y. lacandonica* localizadas en el Sureste de México y Guatemala. Sin embargo, en su hipótesis la misma especie se localiza en más de un subclado.

En la presente investigación la conformación de los clados *Aloifolia* y *Rupicola* es clara, tiene valores de apoyo altos y es consistente con el tipo de fruto. En los subclados es necesario realizar otros análisis e incorporar otros datos para hacer una propuesta taxonómica, particularmente para resolver complejos de especies cuya delimitación es controversial.

Las relaciones basadas en el ADN del cloroplasto también respaldan la monofilia de *Yucca*, pero no la de las secciones y series. Este tipo de ADN en Agavoideae es poco variable y su resolución es pobre en el de subclados (McKain et al., 2012; Jiménez-Barrón et al., 2020). No obstante, varias de las relaciones observadas en los subclados mostraron patrones geográficos. Esto puede explicarse por la naturaleza uniparental de este material genético y su mayor sensibilidad a procesos de introgresión, hibridización, y flujo de genes, entre otros (Hanson, 1993; Arteaga et al., 2020; Heyduck et al., 2021). Cabe considerar también que *Yucca* es un linaje de divergencia muy reciente, por lo cual las relaciones filogenéticas mostradas con este tipo de ADN son en cierta manera oscuras.

Los análisis de tiempos de divergencia indican que los grupos tallo y corona de *Yucca* se originaron durante el Mioceno hace 14.34 y 7.45 Ma respectivamente. Estos resultados son cercanos a los registrados por otros estudios (Good-Ávila., 2006; Smith et al., 2008; Jiménez-Barrón et al., 2020). Asimismo, la mayor diversificación del género ocurrió durante el Plioceno, cuando los climas se tornaron más secos y fríos, y la actividad de la Faja Volcánica Transmexicana se volvió más intensa (Metcalf, 2000; Metcalfe et al., 2006; Mastretta-Yanes et al., 2015).

En relación con la pregunta sobre sí ¿los caracteres morfológicos utilizados en la clasificación tienen correspondencia con la hipótesis de filogenia? y ¿cómo estos caracteres han cambiado en la historia evolutiva del género? Las descripciones de las especies en Floras, tratamientos taxonómicos y protólogos, permitió construir una matriz en la que se codificaron como binarios la caulescencia, margen de las hojas, tipo y dehiscencia del fruto, y tipo de inflorescencia tanto en las especies del género, como en las del grupo hermano. Estas características se evaluaron en la topología obtenida de la región ITS del análisis de Inferencia Bayesiana y que también incluyó los tiempos de divergencia.

La evolución morfológica sugiere que las yucas ancestrales eran caulescentes, con hojas rígidas, frutos secos e inflorescencias ramificadas; algunas de estas características están respaldadas con las mencionadas por Tidwell y Parker (1990). La transición de frutos secos a carnosos podría relacionarse desde cambios en la dispersión (Bremer y Eriksson, 1992; Pabón-Mora and Litt, 2011; Wang et al., 2015), hasta duplicación en el genoma (Scutt *et al.*, 2006; Xiang et al., 2017). Este acontecimiento se ha presentado al menos 20 veces en las monocotiledóneas (Givnish et al., 2005). En *Yucca* los patrones de dispersión de las semillas están relacionados con la dehiscencia del fruto y el grosor de las semillas. Las especies con

fruto seco-dehiscente poseen semillas delgadas y el viento es su principal dispersor (Trelease, 1902; Weber, 1953; Dodd & Linhart, 1994). En tanto que, las especies cuyo fruto es carnoso indehiscente tienen semillas gruesas, que son consumidas simultáneamente con el fruto y son dispersadas por mamíferos pequeños o aves (Lenz, 2001; Vander Wall et al., 2006; Waitmann et al., 2012; Borchert & DeFalco, 2016).

El resto de los caracteres utilizados en la clasificación probablemente son homoplásicos y están más asociados a características ambientales. Por ejemplo, con base en la caulescencia no se recuperaron clados. De acuerdo con algunos estudios la altura y ramificación de los tallos puede ser una respuesta a cambios climáticos y orográficos ocurridos desde el Plio-Pleistoceno hasta la actualidad (Hernández-Hernández et al., 2014). Tales características les confieren resistencia fisiológica a heladas y sequías, además de reducir la herbivoría (Janzen, 1986; Lusk et al., 2016).

Las series que Baker (1880) propuso para *Yucca* con base en el margen de las hojas, *Serrulatae*, *Integrifoliae* y *Filiferae*, no conforman alguno de los subclados de este trabajo. Sin embargo, los integrantes de la Serie *Rupicolae* obtenida en el análisis de Clary (1997), comparten el margen dentado y con una línea amarilla. Cabe señalar que son varias las especies que exhiben esta característica y no todas se agrupan en la Serie *Rupicolae*. En *Agavoideae*, los caracteres vegetativos, especialmente los relativos a las hojas han sido asociados con cambios en el ambiente (Alvarez, 1990; Verhoek-Williams, 1998).

La inflorescencia en las yucas es un racimo o una panícula, ambos tipos, se presentan tanto en el grupo tallo como en el grupo corona y no permitió reconocer clados o subclados. En *Agave* el tipo de inflorescencia tiene valor diagnóstico en el nivel infragenérico, y fue

utilizado por Gentry (1982) para organizar a los agaves con espigas en el subgénero *Littaea*, y a los que tienen panículas en subgénero tipo. Good-Ávila et al. (2006) y Jiménez-Barrón et al. (2020) también consideraron que la polinización, el tipo de inflorescencia y la diversificación de *Agave* están estrechamente relacionados. El análisis de reconstrucción de estados ancestrales con apoyo de otras evidencias como la orogénica, además de estudios recientes sobre la dispersión de las semillas en las yucas, nos permite inferir que la relación con sus dispersores ha jugado un papel clave en la diversificación de estas plantas (Janzen, 1986; Lenz, 2001).

Con respecto al capítulo II la pregunta a contestar fue ¿los caracteres anatómicos foliares serán informativos para utilizarlos en la delimitación de especies? Se ha documentado que, la anatomía de las hojas en diferentes géneros de Agavoideae ha contribuido en la delimitación taxonómica en el nivel genérico y específico (Bell y King, 1944; Blunden y Jewers, 1973; Gentry y Sauck, 1978; Álvarez, 1985; 1990; Solano et al., 2013; 2017; Heyduck et al., 2016; Sánchez-Manzo, 2020). Por lo anterior, se realizaron preparaciones histológicas en las que se examinó el grosor y ornamentación de la cutícula, altura de las células epidérmicas y del parénquima en empalizada, diámetro de las células que conforman las vainas de los haces vasculares y de las células del protoxilema y metaxilema en cinco complejos de especies.

El análisis anatómico apoya en la evaluación taxonómica tanto en el nivel genérico como en el de complejos. Las diferencias registradas en las especies analizadas y en cada integrante del complejo con información adicional respaldan el reconocimiento de estos. De los cinco pares de especies estudiadas, el conformado por *Y. treculeana* y *Y. torreyi*, registró menos variación en los datos anatómicos de este trabajo, así como en los morfológicos de

Robins (1983), y no facilitan su separación como taxones diferentes. Sin embargo, consideramos que en todos los complejos es necesario realizar otros análisis.

Por último, la descripción de una nueva especie se realizó durante las salidas al campo para recolectar especímenes del género. Algunas de estas salidas se llevaron a cabo en el estado Hidalgo, donde recorrimos la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán y observamos varias poblaciones de *Y. filifera* que era la única especie registrada para la zona (Matuda y Piña, 1980; CONANP, 2003). Sin embargo, también observamos otros individuos que diferían en varias características morfológicas con respecto a *Y. filifera*. A esta especie las personas que habitan en la Reserva la nombran comúnmente como “palma china” o “palma de casa”, pero también reconocen un segundo tipo de “palma” a la que denominan “palma ratonera”. Este nombre se debe a que algunos ratones construyen madrigueras en las hojas de la planta (García-Bibian, com. pers.). Al observar en el campo y en el herbario FEZA los especímenes de ambas “palmas”, corroboramos que son taxones diferentes. Debido al nombre común que tiene en su hábitat se describió al nuevo taxón como *Yucca muscipula*.

En *Yucca muscipula* y *Y. filifera* las inflorescencias son péndulas y los filamentos de sus flores exhiben papilas en toda su superficie. No obstante, difieren en varios rasgos, por ejemplo, *Y. muscipula* posee hojas más largas (63.5-82.6 cm) y más angostas (1.6-2.5 cm), glaucas en ambas caras, ramas de la inflorescencia glabras, así como flores y frutos más grandes. La palma ratonera también se relaciona morfológicamente con *Y. mixteca*, pero esta última tiene una mayor altura, en sus hojas el margen se separa en filamentos rectos, haz y envés carecen de papilas, la panícula es erecta y puberulenta, sus flores y frutos son más pequeños, además, los estambres cuentan con papilas que forman hileras marginales en los filamentos. En las tres especies el fruto es carnoso. Con la descripción de *Y. muscipula*

aumenta el número de endemismos de la Barranca de Metztitlán a 11 especies, y a dos las especies de *Yucca* que se distribuyen en Hidalgo. Asimismo, se incrementa a 19 especies endémicas del género en México.

Conclusiones generales

La región ITS en *Yucca* tiene una mejor resolución que la obtenida con ADN del cloroplasto.

Yucca está conformada por dos clados, aquí nombrados *Aloifolia* y *Rupicola*, que concuerdan parcialmente con dos de las secciones de Engelmann (1871), pero sólo con base de acuerdo con el tipo de fruto seco y carnoso.

Para realizar una propuesta subgenérica dentro de los clados, es necesario explorar otras regiones del ADN, así como otras características morfológicas que no han sido consideradas o no se han evaluado con mayor detalle como las florales.

Las yucas con fruto seco conforman un clado, cuyas especies se desarrollan mayoritariamente en el norte de México y gran parte de los Estados Unidos de América. En tanto que, las de fruto carnoso que constituyen el otro clado se establecen en la costa este, y sur de los Estados Unidos, pero principalmente en toda la República Mexicana.

El ADN del cloroplasto es poco variable, no sólo en *Yucca* sino en Agavoideae. Con las regiones de este ADN no se recuperaron clados congruentes con los caracteres morfológicos utilizados en la clasificación.

La topología obtenida a partir del ADN del cloroplasto muestra relaciones geográficas que también forman parte de la historia evolutiva del género. La uniparentalidad de este material es afectado por hibridación, introgresión, polinización, flujo de genes y duplicación del

genoma documentados en Agavoideae, donde juegan un papel importante en la diversificación, pero también obscurecen las relaciones interespecíficas.

Yucca es un género joven y la mayoría de sus especies tiene edades de divergencia menores a 3 Ma. El tipo de dispersión, la historia geológica, y los cambios climáticos-orogénicos del Plioceno-Pleistoceno probablemente favorecieron la diversificación de estas plantas.

La evolución morfológica indica que las yucas ancestrales eran plantas caulescentes, hojas rígidas, inflorescencias racemosas a paniculadas, con fruto seco. El fruto carnoso es un carácter derivado.

Los caracteres anatómicos son útiles en la evaluación taxonómica, pero es recomendable apoyarse con evidencias morfológicas, del hábitat, moleculares o geográficas, y analizar más caracteres anatómicos como las proyecciones de los estomas, el número y tamaño de las fibras que rodean a los haces vasculares, o las relacionadas con las células del floema. para delimitar complejos de especies.

La investigación en el campo, la consulta de especímenes en distintas colecciones vivas, en herbarios virtuales y de manera presencial, la revisión de protólogos, entre otras actividades, hacen posible tener un conocimiento más amplio de las plantas estudiadas, e identificar aquellos taxones que difieren de los que ya han sido descritos, tal como ocurrió con *Y. muscipula*.

Literatura citada

- Álvarez, A. (1985). El complejo estomático en la familia Agavaceae I. Desarrollo. *Feddes Repertorium*, 96, 693-704.
- Álvarez, A. (1990). El complejo estomático en la familia Agavaceae II. Epidermis adulta. *Feddes Repertorium*, 101(3-4), 113-134. <https://doi.org/10.1002/fedr.19901010304>
- Arteaga, M. F., Bello-Bedoy, R., & Gasca-Pineda, J. (2020). Hybridization between yuccas from Baja California: genomic and environmental patterns. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00685>
- Baker, J.G. (1880). A Synopsis of *Aloineae* and *Yuccoideae*. *Journal of the Linnean Society of London* 18(109), 148–241.
- Baker, J.G. (1892). Agaves and Arborescent Liliaceæ on the Riviera. *Bulletin of Miscellaneous Information Kew*, 1892(61):1-10.
- Bell, W., y King, C. (1944). Methods for the identification of the leaf fibers of mescal (*Agave*), *Yucca* (*Yucca*), Beargrass (*Nolina*) and Sotol (*Dasyilirion*). *American Antiquity*, 10(2), 150-160. <https://doi.org/10.2307/275111>
- Blunden, G. y Y.K. Jewers. (1973). The comparative leaf anatomy of *Agave*, *Beschorneria*, *Doryanthes* and *Furcraea* species (Agavaceae: Agaveae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 66 (2),157–179. <https://doi.org/10.1111/j.10958339.1973.tb02167.x>
- Bogler, D. J., & Simpson, B. B. (1996). Phylogeny of Agavaceae based on ITS rDNA sequence variation. *American Journal of Botany*. <https://doi.org/10.2307/2446206>

- Bogler, D., Pires, C., & Francisco-Ortega, J. (2006). Phylogeny of Agavaceae based on *ndhF*, *rbcL*, and its sequences. *Aliso*, 22(1), 313-328. <https://doi.org/10.5642/aliso.20062201.26>
- Borchert, M., & DeFalco, L. A. (2016). *Yucca brevifolia* fruit production, predispersal seed predation, and fruit removal by rodents during two years of contrasting reproduction. *American Journal of Botany*, 103(5), 830-836. <https://doi.org/10.3732/ajb.1500516>
- Bremer, B. & Erickson, O. (1992). Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. *Biological Journal of the Linnean Society*, 47(1): 79–95. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1992.tb00657.x>
- Clary, K. H. (1997). Phylogeny, character evolution, and biogeography of *Yucca* L. (Agavaceae) as inferred from plant morphology and sequences of the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of the nuclear ribosomal DNA. Tesis de doctorado, The University of Texas at Austin.
- Clary, K. M. (2001). The genus *Hesperoyucca* (Agavaceae) in the Western United States and Mexico: New nomenclatural combinations. *Sida*, 19 (4), 839-847.
- CONANP. (2003). *Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, México*. Dirección General de Manejo para la Conservación, Tlalpan, México, D.F., 202 pp.
- Dodd, R. J., & Linhart, Y. B. (1994). Reproductive Consequences of Interactions between *Yucca glauca* (Agavaceae) and *Tegeticula yuccasella* (Lepidoptera) in Colorado. *American Journal of Botany*, 81(7), 815. <https://doi.org/10.2307/2445762>
- Engelmann, G. (1871). *Yucca* and *Hesperaloe*. Watson's Botany of the Fortieth Parallel. Report of the United States Geological Exploration of the Fortieth Parallel, Clarence King, Geologist in Charge. V. Supplement: 496-497.

- Geluso, K., Longo, P. J., Harner, M. J., & White, J. T. (2021). Incomplete recovery of seeds from scatterhoards by granivorous rodents: Implications for plant establishment. *Ecology and Evolution*, 12(1). <https://doi.org/10.1002/ece3.8523>
- Gentry, H. S. (1982). *Agaves of Continental North America*. Tucson. University of Arizona.
- Gentry, H. S. & Sauck, J. R. (1978). The stomatal complex in Agave: groups Deserticolae, Campaniflorae, Umbelliflorae. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 41, 371-387. <https://www.biodiversitylibrary.org/part/52356>
- Good-Avila, S. V., Souza, V., Gaut, B. S., & Eguiarte, L. E. (2006). Timing and rate of speciation in Agave (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(24), 9124–9129. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603312103>
- Hanson, M. A. (1993). *Dispersed unidirectional introgression from Yucca schidigera into Y. baccata (Agavaceae)*. [PhD. Dissertation.]. The Claremont Graduate School, California.
- Hernández-Hernández, T., Brown, J. W., Schlumpberger, B. O., Eguiarte, L. E., & Magallón, S. (2014). Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist*, 202(4), 1382-1397. <https://doi.org/10.1111/nph.12752>
- Hess, W. H. & Robins, L. (1996). *Yucca*. In: Flora of North America Editorial Committee, eds. 1993+. Flora of North America North of Mexico. 21+ vols. New York and Oxford. Vol. 26, pp. 413-440.
- Heyduk, K., McAssey, E. V., Grimwood, J., Shu, S., Schmutz, J., McKain, M. R., & Leebens-Mack, J. (2021). Hybridization history and repetitive element content in the genome of a homoploid

hybrid, *Yucca gloriosa* (Asparagaceae). *Frontiers in Plant Science*, 11, 1-16.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573767>

Janzen, D. H. (1986). Chihuahuan desert nopaleras: defaunated big mammal vegetation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1), 595–636.
<https://doi.org/10.1146/annurev.es.17.110186.003115>

Jiménez-Barrón, O., García-Sandoval, R., Magallón, S., García-Mendoza, A., Nieto-Sotelo, J., Aguirre-Planter, E., & Eguiarte, L. E. (2020). Phylogeny, diversification rate, and divergence time of *Agave sensu lato* (Asparagaceae), a group of recent origin in the process of diversification. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.536135>

Lenz, L. (2001). Seed dispersal in *Yucca brevifolia* (Agavaceae) present and past, with consideration of the future of the species. *Aliso*, 20(2), 61-74. <https://doi.org/10.5642/aliso.20012002.03>

Lusk, C. H., McGlone, M. S., & Overton, J. M. (2016). Climate predicts the proportion of divaricate plant species in New Zealand arborescent assemblages. *Journal of Biogeography*, 43(9), 1881-1892. <https://doi.org/10.1111/jbi.12814>

Mastretta-Yanes, A., Moreno-Letelier, A., Piñero, D., Jorgensen, T. H., & Emerson, B. C. (2015). Biodiversity in the Mexican highlands and the interaction of geology, geography and climate within the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Journal of Biogeography*, 42(9), 1586–1600.
<https://doi.org/10.1111/jbi.12546>

Matuda, E. y Piña, L. (1980). *Las plantas mexicanas del género Yucca*. Serie Fernando de Alva Ixtlilxóchitl, Colección Miscelánea Estado de México.

- McKain, M. R., Wickett, N., Zhang, Y., Ayyampalayam, S., McCombie, W. R., Chase, M. W., Pires, J. C., Pamphilis, C. W., & Leebens-Mack, J. (2012). Phylogenomic analysis of transcriptome data elucidates co-occurrence of a paleopolyploid event and the origin of bimodal karyotypes in Agavoideae (Asparagaceae). *American Journal of Botany*, 99(2), 397-406. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100537>
- McKelvey, S.D. (1938). *Yuccas of the Southwestern United States, parts 1*. Arnold Arboretum, Jamaica Plain.
- McKelvey, S.D. (1947). *Yuccas of the Southwestern United States, parts 2*. Arnold Arboretum, Jamaica Plain.
- Metcalfe, S.E., O'Hara, S.L., Caballero, M. & Davies, S.J. (2000). Records of Late Pleistocene–Holocene climatic change in Mexico – a review. *Quaternary Science Reviews*, 19, 699–721.
- Metcalfe, S.E. (2006). Late Quaternary environments of the northern deserts and central Transvolcanic Belt of Mexico. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93, 258–273.
- Pellmyr, O., Segraves, K. A., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M., y Leebens-Mack, J. (2007). The phylogeny of yuccas. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2), 493-501. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.12.015>
- Robins, L. (1983). A systematic study of *Yucca* fleshy Chihuahuan Desert. [PhD. Doctor of Philosophy]. Faculty of Texas Tech University.
- Rzedowski, J. (1991). El endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. *Acta Botanica Mexicana* 15: 47–64. <https://doi.org/10.21829/abm15.1991.620>

- Rzedowski, J. (2015). Catálogo preliminar de plantas vasculares de distribución restringida a la Sierra Madre Oriental. Fascículo complementario XXXI. *Flora del Bajío y de regiones adyacentes*. Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro Michoacán. <https://doi.org/10.21829/fb.172.2015.XXXI>
- Sánchez-Manzo, A. (2020). *Ornamentación y composición química de la cutícula foliar de Yucca (Asparagaceae, Agavoideae)*. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- Segraves, K. A., & Pellmyr, O. (2001). Phylogeography of the yucca moth *Tegeticula maculata*: the role of historical biogeography in reconciling high genetic structure with limited speciation. *Molecular Ecology*, 10(5), 1247-1253. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2001.01275.x>
- Smith, C., Pellmyr, O., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M., Leebens-Mack, J., & Segraves, K. A. (2008). Pattern and timing of diversification in *Yucca* (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1632), 249-258. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1405>
- Solano, E., Terrazas, T., & González-Becerril, A. (2013). Comparative anatomy of the stem, leaf and inflorescence basal axis of *Polianthes* L. (Asparagaceae, Agavoideae) species. *Feddes Repertorium*, 124(4), 105-115. <https://doi.org/10.1002/fedr.201300017>
- Solano, E., Terrazas, T., Reyes-Rivera, J., & Serrano-Casas, H. (2017). Anatomía comparativa de raíz, tallo, hoja y base del pedúnculo de *Manfreda* (Asparagaceae: Agavoideae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(4), 899-911. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.019>

- Tidwell, W. D., & Parker, L. D. (1990). *Protoyucca shadishii* gen. et sp. nov., An arborescent monocotyledon with secondary growth from the Middle Miocene of Northwestern Nevada, U.S.A. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 62(1-2), 79-95. [https://doi.org/10.1016/0034-6667\(90\)90018-e](https://doi.org/10.1016/0034-6667(90)90018-e)
- Trelease, W. (1902). The Yuceae. *Missouri Botanical Garden Annual Report*, 13, 27–133. <https://doi.org/10.2307/2400121>
- Vander Wall, S. B., Esque, T., Haines, D., Garnett, M., & Waitman, B. A. (2006). Joshua tree (*Yucca brevifolia*) seeds are dispersed by seed-caching rodents. *Ecoscience*, 13(4), 539–543.
- Verde-Herrera, A. (2023). *Anatomía foliar comparativa de algunas especies de Yucca (Asparagaceae, Agavoideae)*. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- Verhoek-Williams, S. (1998). Agavaceae. En K. Kubitzki (Ed.), *The families and genera of vascular plants: flowering plants monocotyledons Lillianaes (except Orchidaceae)*, Vol. III. Springer, Berlín, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-03533-7_8
- Waitman, B., Vander Wall, S., & Esque, T. (2012). Seed dispersal and seed fate in Joshua tree (*Yucca brevifolia*). *Journal of Arid Environments*, 81, 1–8.
- Ward, D. B. (2012). *Yucca filamentosa* and *Yucca flaccida* (Agavaceae) are distinct taxa in their type localities. *Castanea*, 76(2), 222-228. <https://doi.org/10.2179/10-017.1>
- Weber, M. J. (1953). *Yucas of the Southwest*. U.S. Dept. of Agriculture. *Agriculture monograph*, 17, 1-97.