

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/353962716>

Echeveria islasiae, una nueva especie de la serie Longistylae (Crassulaceae) Echeveria islasiae a new species from series Longistylae (Crassulaceae)

Article in *Brittonia* · August 2021

DOI: 10.1007/s12228-021-09658-9

CITATIONS

0

READS

17

2 authors, including:



[Jerónimo Panuncio Reyes santiago](#)

Universidad Nacional Autónoma de México

22 PUBLICATIONS 83 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



It will help plant propagation programs in the RBTC [View project](#)

Echeveria islasiae, una nueva especie de la serie *Longistylae* (Crassulaceae)

Echeveria islasiae a new species from series *Longistylae* (Crassulaceae)

JERÓNIMO REYES SANTIAGO¹ AND LUIS EMILIO DE LA CRUZ-LÓPEZ²

¹Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito exterior s/n, Ciudad Universitaria, Copilco, C.P 04510, Coyoacán, Ciudad de México, Mexico; e-mail: jreyes@ib.unam.mx

²Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Ciudad Universitaria 3000, C.P. 04360, Coyoacán, Ciudad de México, Mexico; e-mail: ledbiologia@hotmail.com

Resumen. Se propone como nueva especie a *Echeveria islasiae*, una planta colectada cerca del poblado de Olinalá en el estado de Guerrero, México. Sus características morfológicas tales como sus inflorescencias en cincino con pocas flores y corola elongada con ápice verdoso, la relacionan con los taxones de la serie *Longistylae*. Por el contrario, difiere de los otros miembros de la serie por presentar hojas más angostas, verde oscuro, oblanceolado-espátuladas a cimbitiformes, algo triquetras en el ápice, pedúnculo floral rojizo oscuro, por el color rosa en la zona media de la corola, así como, por la ausencia de apéndices a los lados de los filamentos epipétalos. Un primer acercamiento para la construcción de una librería de referencia de códigos de barras genéticos, indica dos nucleótidos diagnósticos que diferencian molecularmente al nuevo taxon de sus especies relacionadas, uno en la región del cloroplasto *matK* y uno en la región nuclear ITS2.

Palabras Clave: Cualác; *Echeveria longissima* var. *longissima*; *Echeveria purpurorum*; Mixteca guerrerense; taxonomía

Abstract. *Echeveria islasiae* is proposed as new species, a plant collected near the town of Olinalá in the state of Guerrero, Mexico. Its morphological characteristics such as few-flowered cincinnate inflorescences and an elongate corolla with greenish apex relate it with the taxa of ser. *Longistylae*. Conversely, it differs from the other taxa of the series by having narrower, dark green, oblanceolate-spatulate to cymbiform leaves that are somewhat triquetrous at the apex, deep red floral peduncles and pedicels, the corolla pink colored at the middle, and the absence of appendages at the sides of the epipetalous filaments. A first effort to build a reference library for DNA barcoding shows two diagnostic nucleotides which differentiate the new species from related taxa, one in the *matK* chloroplast region and one in the ITS2 nuclear region.

Key Words: Cualác, *Echeveria longissima* var. *longissima*, *Echeveria purpurorum*, Mixteca guerrerense.

La serie *Longistylae* E. Walther perteneciente al género *Echeveria* DC. (Crassulaceae) se caracteriza por incluir a plantas glabras, acaulescentes, rosetas de tamaño pequeño a mediano, por sus inflorescencias cortas cincinadas, y por presentar corolas y estilos más largos (con respecto a otras series), éstos frecuentemente exertos a la corola (Walther, 1959; Walther,

1972; Kimmach, 2003; Meyrán & López, 2003). Eric Walther (1959), estableció la serie monotípica *Longistylae* para separar a *Echeveria longissima* E. Walther del resto del género *Echeveria*, basado principalmente en su corola elongada con estilos exertos al tubo de la corola (Walther, 1938). Posteriormente, se describieron una variedad y una subespecie de *E. longissima*, *E. longissima* var. *aztatlensis* J. Meyrán cuyas diferencias con la variedad *E. longissima* var. *longissima* E. Walther corresponden a variaciones en el tamaño de la roseta, al hábito cespitoso contra solitario y variaciones en el color y forma de la corola (Meyrán, 1982), mientras que la subespecie *E. longissima* subsp. *brachyantha* J. Reyes, Brachet & O. González difiere de las anteriores principalmente por sus flores más cortas y estilos insertos en el tubo de la corola (Reyes et al., 2015).

El nuevo taxón fue colectado durante un viaje de exploración al estado de Guerrero, México en diciembre de 2015 y fue incluido en un análisis filogenético independiente orientado a explorar las relaciones filogenéticas de *Echeveria* (de la Cruz-López et al., 2019). El árbol de consenso de mayoría inferido con caracteres moleculares indicó que la nueva especie no está directamente relacionada con las variedades de *E. longissima*, aunque su morfología y distribución geográfica si están en correspondencia con la serie *Longistylae*. La discrepancia anterior puede deberse a la falta de resolución señalada para este clado particular (de la Cruz-López et al., 2019). Derivado del estudio mencionado anteriormente y con base también en su morfología y distribución geográfica, se infiere que *E. purpurorum* A. Berger debe ser transferida de ser. *Urbiniæ* a ser. *Longistylae*, dada su cercanía filogenética con las variedades de *E. longissima* (ver de la Cruz-López et al., 2019, Fig. 2b).

Secuencias de ADN de los marcadores moleculares *rbcL*, *matK* e ITS2 para las especies de la serie *Longistylae* —incluyendo al nuevo taxón— fueron comparadas a partir de una librería de referencia de códigos de barras genéticos —BOLD systems— (Ratnasingham & Hebert, 2007) con la finalidad de incorporar información molecular a la diferenciación de *E. islasiae* de sus especies relacionadas, así como para ubicar al nuevo taxón en contexto filogenético con todos los grupos reconocidos al interior del género *Echeveria*. Si bien la librería está en construcción y tiene limitaciones como el reducido número de individuos muestreados —en su mayoría, los taxones están representados por un único

individuo—, representa la oportunidad de explorar los niveles de variación interespecífica y acompañar a la morfología en el descubrimiento de nuevas especies en las crasuláceas mexicanas, además de ser empleadas como herramienta de identificación molecular en el contexto de los códigos de barras genéticos basados en caracteres (Davis & Nixon, 1992; DeSalle et al., 2005; Rach et al., 2008; Sarkar et al., 2008; Nicolalde-Morejón et al., 2010; Goldstein & DeSalle, 2011; Jörger & Schrödl, 2014).

Materiales y métodos

Muestreo de taxones.—Secuencias de ADN de 41 taxa de *Echeveria* fueron muestreados, se incluyen dos representantes de cada una de las categorías infragenéricas en las que se ha dividido al género. Al menos un individuo de los taxones correspondientes a la serie *Longistylae* fueron incluidos. Dos especies de *Pachyphytum* fueron empleados como grupo externo.

Extracción, amplificación y secuenciación de ADN.—El ADN genómico fue extraído a partir de tejido vegetal seco en gel de sílice empleando el método 2X CTAB. La reacción en cadena de la polimerasa se llevó a cabo con el kit de Qiagen® Taq PCR Core Kit siguiendo el protocolo del fabricante en volúmenes de 12.5 µL. Los pares de primers para las tres regiones seleccionadas correspondieron a: *rbcLa-F* (5'ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC3'), *rbcLa-R* (5'GTAATAATCAAGTCCACCRCG3'), *MatK-1RKIM-f* (5'ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC3'), *MatK-3FKIM-r* (5'CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG3') e *ITS2-S2F* (5'ATGCGATACTTGGTGTGAAT3'), *ITS4* (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3').

Los productos amplificados fueron visualizados en geles de agarosa en una cámara ultravioleta. La secuenciación de las regiones de ADN se realizó en las instalaciones del CCDB (Centro Canadiense para Códigos de Barras de ADN, por sus siglas en inglés) empleando la técnica Sanger. El ensamble y edición de las secuencias se realizó con el programa bioinformático Geneious v. R9 (<http://www.geneious.com>, Kearse et al., 2012) y fueron añadidas a la base de datos BOLD systems (Ratnasingham & Hebert, 2007) y a GenBank para su consulta (Table 1).

TABLE 1. Números de acceso de las secuencias a GenBank para los taxones muestreados.

Taxa	<i>rbcl</i>	<i>matK</i>	ITS2
<i>E. affinis</i> JE-6342	MG220490.1	MG220546.1	MG217206.1
<i>E. agavoides</i> JE-4588	MG220440.1	MG220496.1	MG217156.1
<i>E. amoena</i> JE-6344	MG220454.1	MG220510.1	MG217170.1
<i>E. bifida</i> JE-6341	MG220474.1	MG220530.1	MG217190.1
<i>E. calycosa</i> JE-5570	MG220489.1	MG220545.1	MG217205.1
<i>E. cante</i> JE-5246	MG220446.1	MG220502.1	MG217162.1
<i>E. carminea</i> JE-6283	MG220436.1	MG220492.1	MG217152.1
<i>E. craigiana</i> JE-6343	MG220470.1	MG220526.1	MG217186.1
<i>E. crassicaulis</i> JE-5354	MG220441.1	MG220497.1	MG217157.1
<i>E. diffractens</i> JE-5883	MG521741.1	MG521618.1	MG521465.1
<i>E. elegans</i> JE-6345	MG220465.1	MG220521.1	MG217181.1
<i>E. gigantea</i> JE-5151	MG220478.1	MG220534.1	MG217194.1
<i>E. heterosepala</i> JE-5813	MG220473.1	MG220529.1	MG217189.1
<i>E. islasiae</i> sp. nov. JE-8823	MT967018	MT680804	MT733115
<i>E. laui</i> JE-6273	MG220456.1	MG220512.1	MG217172.1
<i>E. longissima</i> var. <i>aztatlensis</i> JE-3741	MG220486.1	MG220542.1	MG217202.1
<i>E. longissima</i> var. <i>longissima</i> JE-9091	MT967019	MT680806	MT733117
<i>E. longissima</i> subsp. <i>brachyantha</i> JE-5593	MT967020	MT680805	MT733116
<i>E. lutea</i> JE-5293	MG220461.1	MG220517.1	MG217177.1
<i>E. macdougalii</i> JE-6305	MG521746.1	MG521623.1	MG521470.1
<i>E. microcalyx</i> JE-5848	MG220460.1	MG220516.1	MG217176.1
<i>E. minima</i> JE-5652	MG220448.1	MG220504.1	MG217164.1
<i>E. nuda</i> JE-5824	MG220437.1	MG220493.1	MG217153.1
<i>E. paniculata</i> var. <i>maculata</i> JE-8897	MG521766.1	MG521641.1	MG521490.1
<i>E. peacockii</i> JE-6272	MG220480.1	MG220536.1	MG217196.1
<i>E. platyphylla</i> JE-6271	MG220491.1	MG220547.1	MG217207.1
<i>E. purpurorum</i> JE-6338	MG220483.1	MG220539.1	MG217199.1
<i>E. purpurorum</i> JE-9081	MT967022	MT680808	MT733119
<i>E. purpurorum</i> LED-131	MT967021	MT680807	MT733118
<i>E. rosea</i> JE-5635	MG220438.1	MG220494.1	MG217154.1
<i>E. secunda</i> JE-6943	MT967023	MT967026	MT967029
<i>E. setosa</i> var. <i>ciliata</i> JE-5152	MG521817.1	MG521685.1	MG521537.1
<i>E. setosa</i> var. <i>deminuta</i> JE-3795	MG521813.1	MG521681.1	MG521533.1
<i>E. setosa</i> var. <i>setosa</i> JE-8552	MT967024	MT967027	MT967030
<i>E. setosa</i> var. <i>setosa</i> JE-9092	MT967025	MT967028	MT967031
<i>E. tencho</i> JE-8228	MG521820.1	MG521688.1	MG521540.1
<i>E. valvata</i> JE-5563	MG220466.1	MG220522.1	MG217182.1
<i>E. zorzaniana</i> JE-5218	MG220444.1	MG220500.1	MG217160.1
<i>P. oviferum</i> JE-6038	MG521718.1	MG521597.1	MG521444.1
<i>P. bracteosum</i> JE-6275	MG220447.1	MG220503.1	MG217163.1

Análisis filogenético.—Las secuencias de los marcadores *rbcl*, *matK* e ITS2 fueron concatenadas, alineadas y exportadas en formato FASTA. Esta matriz concatenada fue empleada para inferir un árbol filogenético con el criterio de máxima verosimilitud en el programa W-IQ-TREE (Trifinopoulos et al., 2016). La selección de modelos de sustitución nucleotídica para cada partición fue obtenida mediante PartitionFinder (Lanfear et al., 2012) correspondió a *rbcl*: HKY+F+I, para *matK*: K3Pu+F+R2 y para ITS2: TNe+R2 de acuerdo con el Criterio de Información Bayesiana (BIC). El árbol de consenso de mayoría fue editado en Tree Graph2

v2.14.0–771 (Stöver & Müller, 2010) para su visualización.

Taxonomía

Echeveria islasiae J.Reyes y L.E.Cruz-López, **sp. nov.** Tipo: México, Guerrero, municipio de Cualác, cima del Cerro Cistepec, 2 km al norte de Chiaucingo, 4 km al este del poblado de Olinalá, 17°46'11.1"N, 98°40'58.9"O, 1830 m, 22 diciembre 2015, *J. Reyes* 8823 (holotipo: MEXU; isotipo: MEXU). (Fig. 1.)

Diagnosis: *Echeveria islasiae* is morphologically related to *E. longissima* and its infraespecific taxa, in some traits, to

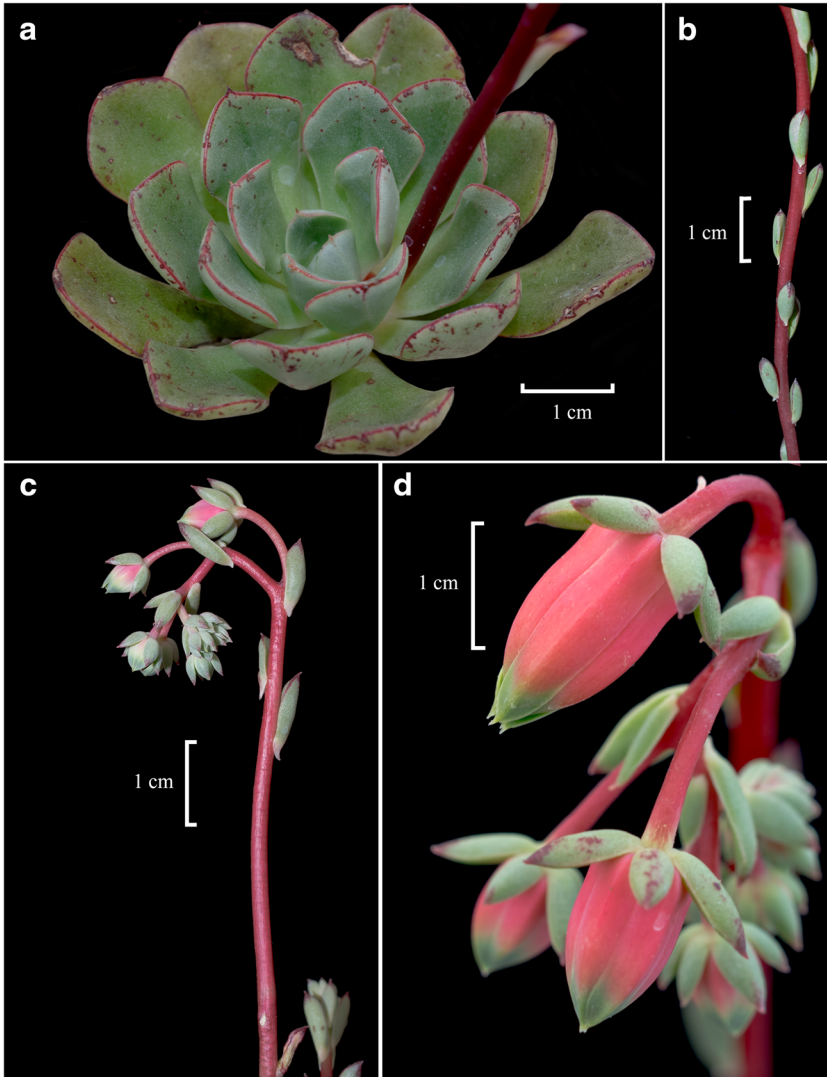


FIG. 1. *Echeveria islasiae*. A. Roseta. B. Pedúnculo floral y brácteas. C. Inflorescencia. D. Detalle de la flor. (Fotografías tomadas del holotipo antes de la conservación.)

E. purpurorum. The new species can be differentiated from these related taxa by having oblanceolate-spatulate leaves, deep red peduncles and pedicels, shorter flowers with pink petals, a conoid-globose corolla, petals without appendages on the sides of the epipetalous filaments, and adnate styles shorter than the corolla.

Planta perenne, solitaria, rosulada, suculenta, glabra. Raíces fibrosas. Tallos no evidentes, erectos, 2–4 cm de longitud, 1.5–1.8 cm de diámetro. Roseta densa, 4.5–7 cm de diámetro, hojas extendidas a ligeramente ascendentes, 2.5–3 × 1–1.5 cm, base sésil, oblanceolado-espatuladas a cimbiformes, verde oscuro, margen

teñido de rojo cerca del ápice, hojas con diminuto mucrón de 1 mm de longitud, ápice obtuso. Tallo floral erecto, pedúnculo rojo intenso, 1–2 por roseta, 12–26 cm de longitud incluyendo la inflorescencia, 3.5–4 mm de grosor cerca de la base. Brácteas ascendentes, amplexicaules, cimbiformes a elíptico-ovaladas, base espolonada, margen entero, ápice mucronulado y rojizo, 1–1.5 × 0.3–0.45 cm de ancho. Inflorescencia en cincino, 5–11 cm de longitud, 8–12 flores por inflorescencia, bracteólas cimbiformes, 5–9 × 3–5 mm, aristadas. Pedicelos curvos a rectos, 13–15 mm de longitud, 1.2–

1.5 mm de grosor, rojo intenso. Cáliz 5 sépalos casi iguales, $5-7 \times 1.5-2$ mm, lanceolados a deltoides, extendidos a ascendentes, mucronados, verdes, ápice rojizo. Corola bicolor, cónica a globosa, pentagonal, $1.3-1.6 \times 0.6-0.7$ cm de ancho, cerca de la base, rosa mexicano a rojiza en la base, verde en la zona apical, pétalos naviculares a elíptico-ensiformes, 1.5×0.3 cm de ancho, blanquecinos en la base de la cara interior, ápice verde, cavidad nectarial ca. de 2 mm de diámetro, Androceo de 10 estambres, los estambres antisépalos de 8–9 mm de longitud, blancos, los epipétalos de 5–6 mm de largo, blancos. Gineceo de 5 carpelos, ovarios blanquecinos, 5–6 mm de longitud, 4–5 mm de grosor, estilos de 3 mm de longitud, amarillentos o verdosos, estigmas púrpuras o verdes. Nectarios reniformes, amarillo pálido, $2 \times$ ca. 1 mm. Frutos polifolículos con apertura dorsal. Semillas ovaladas, marrón-rojizas.

Distribución y hábitat.—*Echeveria islasiae* se conoce únicamente de la localidad tipo (Fig. 2a),

aunque no se descarta que pueda ocurrir en otras localidades puesto que no se realizó un mayor esfuerzo de búsqueda en los alrededores. El hábitat del nuevo taxón consiste de una zona rocosa con elementos de bosque de encino (*Quercus* sp.) y matorral xerófilo, algunas especies asociadas son *Agave* sp., *Hechtia* sp., *Mammillaria* sp., *Opuntia* sp., entre otras (Fig. 2b).

Etimología.—El epíteto específico es dedicado a la Maestra en Ciencias Biológicas Ángeles Islas Luna, del Jardín Botánico de la UNAM, quien ha acompañado anteriormente en el descubrimiento y descripción de nuevas especies de Crassulaceae, así como, por su labor de trabajo de campo en numerosas ocasiones, una de las cuales, incluye al nuevo taxón.

Un estudio filogenético molecular exploratorio independiente, indica que *E. islasiae*, etiquetada como *Echeveria* aff. *Longissima* JE-5523 no está cercanamente relacionada con las variedades de *E. longissima* (de la Cruz-López et al., 2019). Los

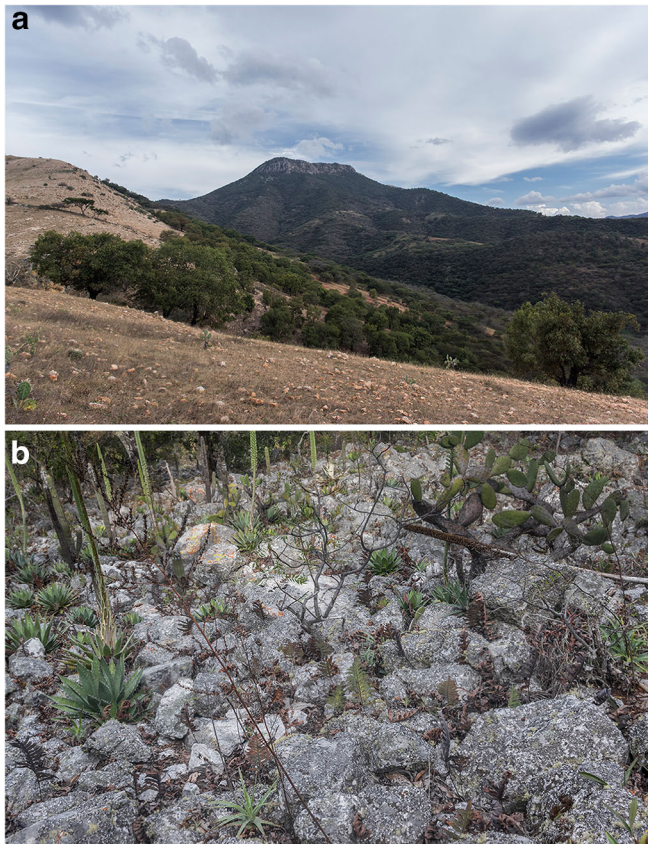


FIG. 2. A. Vista occidental del cerro Cistepec (al fondo). B. Hábitat de *Echeveria islasiae*.

autores del estudio anterior señalan problemas de resolución en éste clado en particular, que corresponde al género *Echeveria* y que incluye

solo a 9 de las 17 series en las que se ha dividido al género (de la Cruz-López et al., 2019). El árbol de consenso de mayoría inferido aquí muestra a

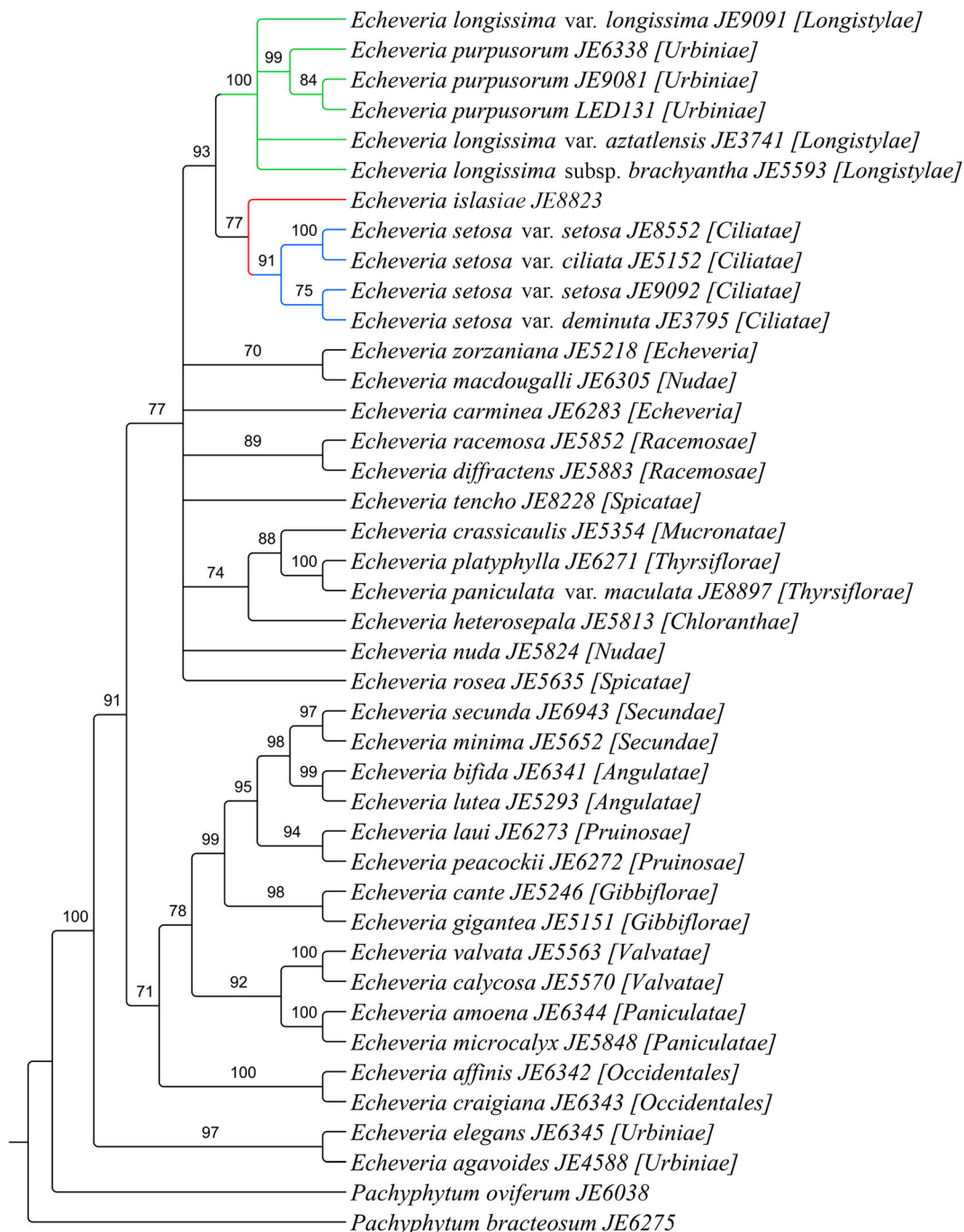


FIG. 3. Cladograma de consenso de mayoría (Log-likelihood = -4108.871) de representantes de todas las series de *Echeveria*. Las ramas verdes indican al clado *Longistylae*, las ramas azules corresponden a la ser. *Ciliatae*, en rojo se indica la rama correspondiente a *E. islasiae*.

las variedades de *E. longissima* y *E. purpurorum* formando un clado con alto soporte de Bootstrap. *E. islasiae* se ubica como especie hermana de otro clado formado por representantes de la ser. *Ciliatae* Moran (1961) aunque con bajo soporte (Fig. 3). Cabe señalar que si bien *E. islasiae* no fue recobrada como directamente relacionada con la serie *Longistylae* —más bien comparte un ancestro común más reciente con la ser. *Ciliatae*—, su área de distribución en la Mixteca

guerrerense en los límites de los estados de Guerrero, Oaxaca y Puebla está en concordancia tanto con *Ciliatae* como *Longistylae* (Meyrán & López, 2003; Kimmach, 2003). Sin embargo, la ausencia de cilios o tricomas glandulares en todos sus órganos y su corola elongada, no permiten su inclusión en *Ciliatae*. En cambio, es debido a su mayor similitud en caracteres morfológicos, tales como: rosetas pequeñas con hojas extendidas, hojas verdosas moteadas con márgenes rojizos,

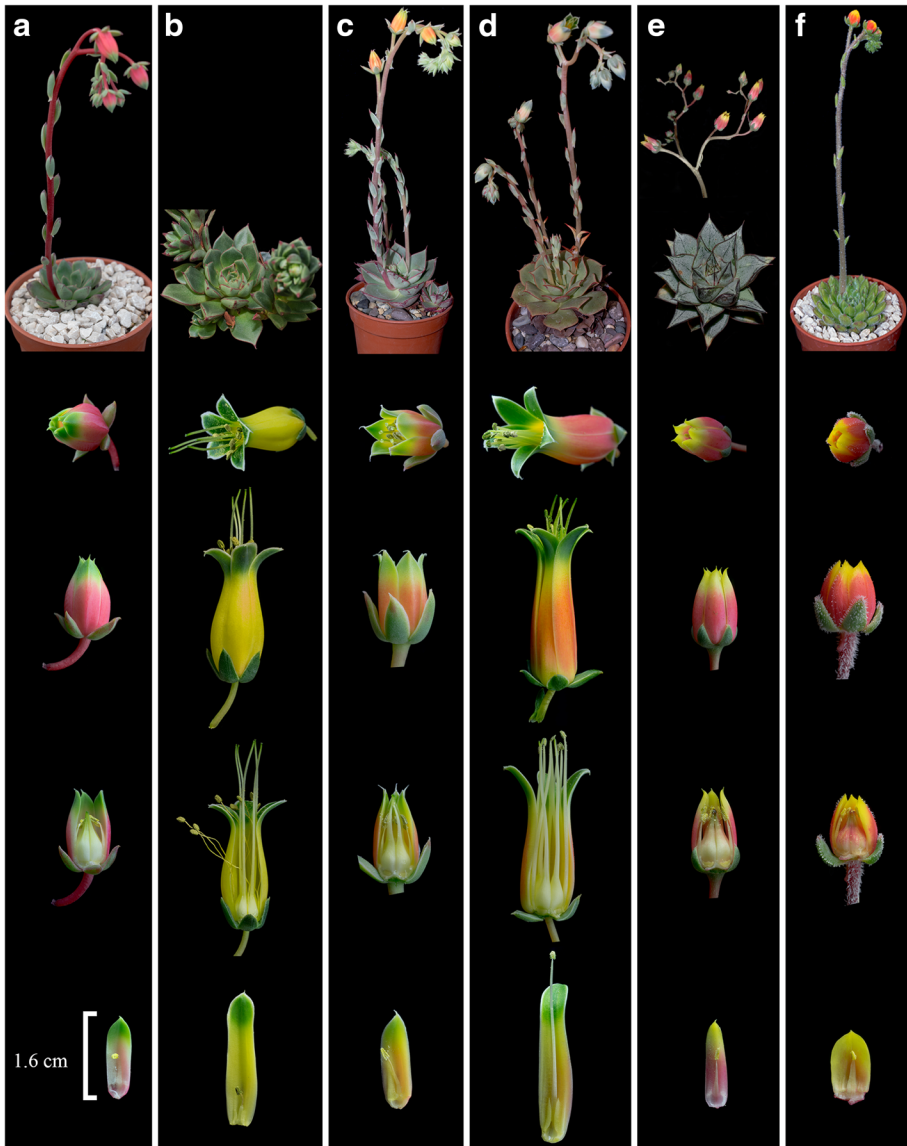


FIG. 4. Comparación de la morfología de *Echeveria islasiae* con especies relacionadas. **A.** *E. islasiae*. **B.** *E. longissima* var. *azatlensis*. **C.** *E. longissima* subsp. *brachyantha*. **D.** *E. longissima* var. *longissima*. **E.** *E. purpurorum*. **F.** *E. setosa* var. *setosa*. (Las flores se presentan a escala para comparar sus dimensiones.)

1–2 inflorescencias por roseta, éstas últimas no mayores a 30 cm de longitud, inflorescencia con pocas flores y por su corola bicolor con ápice verdoso (Fig. 4), que *E. islasiae* es ubicada en la serie *Longistylae* del género *Echeveria*.

En esta serie se le relaciona morfológicamente más cercana a *E. longissima* var. *brachyantha* y *E. purpusorum*, con las cuales comparte la longitud reducida tanto de la corola como de los estilos (Fig. 4). Por el contrario, *E. islasiae* puede ser diferenciada del resto de los taxones de *Longistylae* por sus hojas más angostas, éstas oblanceolado-espátuladas a cimbiformes vs obovadas (Fig. 4, Table 2), algo triquetras en el

ápice, con un mucrón más pequeño (1 mm vs 2 ó 3 mm) y con margen obtuso, mientras que las demás especies de *Longistylae* presentan un margen agudo, por su pedúnculo floral rojo intenso (Fig. 4, Table 2), por su corola conoide-globosa, estilos cortos adnados entre sí (con excepción de *E. purpusorum*), y la ausencia de apéndices cilíndricos en la cara interna de los pétalos a los costados de los filamentos epipétalos (Fig. 4).

Desde la perspectiva conocida como códigos de barras genéticos basados en caracteres (DeSalle et al., 2005; Goldstein & DeSalle, 2011), *E. islasiae* puede ser diferenciada

TABLE 2. Comparación morfológica entre *E. islasiae* y especies relacionadas.

Carácter	<i>E. islasiae</i> sp. nov.	<i>E. longissima</i> var. <i>aztatlensis</i>	<i>E. longissima</i> subsp. <i>brachyantha</i>	<i>E. longissima</i> var. <i>longissima</i>	<i>E. purpusorum</i>
Hábito	Solitario	Cespitoso	Solitario	Solitario	Solitario
Roseta					
Diámetro (cm)	4.5–7	3–8	8–11	7–12	8–18
Hojas					
Forma	Oblanceolado-espátuladas a cimbiformes	Obovadas	Obovadas	Obovado-cuneadas	Ovado-acuminadas
Color	Verde oscuro	Verde	Verde	Verde	Verde oscuro
Longitud (cm)	2.5–3	2.3–3	4–7	6	3–7
Ancho (cm)	1–1.5	1.1–1.5	2.5–3	3	2–3
Inflorescencia					
Longitud (cm)	12–26	20	15–28	30	30
Color del pedúnculo	Rojo intenso	Verde claro	Rosa claro	Rosa claro	Rosa claro
Brácteas					
Longitud (cm)	1–1.5	0.9–1.1	1.5–2	2	1.5
Forma	Cimbiformes a elíptico-ovaladas	elípticas	Elíptico-oblanceoladas	Obovado-oblanceoladas	Ovadas
Ápice	Obtuso	Agudo	Agudo	Cuspidado-acuminado	Agudo
Corola					
Longitud (cm)	1.3–1.6	2.6–3	13–16	3	1.2–1.4
Ancho (cm)	0.6–0.7	1–1.2	0.8–1.16	1	0.8–1
Color	Rosa en la base, verde en el ápice	Amarilla en la base, rosa en medio y verde en el ápice	Naranja en la base, verde en el ápice	Naranja en la base, amarillo en medio, verde en el ápice	Rosa en la base, amarillo en el ápice
Forma	Conoide-globosa	Urceolada	Tubular	Urceolada	Urceolado-globosa
Pétalos					
Apéndices	Ausentes	Presentes	Presentes	Presentes	Ausentes
Gineceo					
Color de los ovarios	Blancos	Blancos	Blancos	Blancos	Blancos
Color de los estilos	Amarillos o verdes	Verde claro	Verde claro	Verde claro	Verde claro
Color del nectario	Amarillo pálido	Blanco	Amarillo pálido	Blanco	Blanco a amarillos
Distribución	Guerrero	Oaxaca	Oaxaca	Oaxaca	Oaxaca y Puebla

TABLE 3. Sinapomorfías y autapomorfías en la región del cloroplasto *matK* del clado *Longistylae*.

Especie/Sitio	47	206	210	211	213	221	228	234	299	321	398	467	550	643	669	807
<i>E. islasiae</i> JE-8823	C	C	T	G	C	C	C	C	G	C	T	G	C	A	A	?
<i>E. longissima</i> var. <i>azatlensis</i> JE-3741	C	C	T	G	C	C	C	A	T	A	T	G	C	A	A	?
<i>E. longissima</i> var. <i>longissima</i> JE-9091	C	C	T	G	C	T	C	A	T	C	T	G	C	A	A	?
<i>E. longissima</i> subsp. <i>brachyantha</i> JE-5593	C	C	T	G	C	C	A	A	T	C	T	A	C	A	A	?
<i>E. purpusorum</i> JE-6338	C	C	T	G	C	C	C	A	T	C	T	G	A	A	C	?
<i>E. purpusorum</i> JE-9081	A	C	T	G	C	C	A	A	T	C	T	G	C	A	C	G
<i>E. purpusorum</i> LED-131	C	C	T	G	C	C	C	A	T	C	T	G	C	A	C	G
<i>E. setosa</i> var. <i>ciliata</i> JE-5152	C	C	G	A	A	C	A	C	T	C	C	G	C	A	A	?
<i>E. setosa</i> var. <i>deminuta</i> JE-3795	C	T	T	G	C	C	C	C	T	C	T	G	C	A	A	?
<i>E. setosa</i> var. <i>setosa</i> JE-8552	C	C	G	A	A	C	A	C	T	C	C	G	C	A	A	A
<i>E. setosa</i> var. <i>setosa</i> JE-9092	C	C	T	G	C	C	C	C	T	C	C	G	C	A	A	?
<i>E. setosa</i> var. <i>ciliata</i> JE-5152	C	C	G	A	A	C	A	C	T	C	C	G	C	A	A	?
<i>E. setosa</i> var. <i>deminuta</i> JE-9092	C	C	T	G	C	C	C	C	T	A	T	G	C	T	A	?

TABLE 4. Sinapomorfías y autapomorfías en la región nuclear ITS2 en el clado *Longistylae*.

Especie/Sitio	90	127	129	189	231	236	238	239	256	259	270	311	320	323	461
<i>E. islasiae</i> JE-8823	T	G	C	C	C	T	G	G	C	C	C	C	C	C	?
<i>E. longissima</i> var. <i>longissima</i> JE-9091	C	T	T	C	T	C	G	A	C	C	C	C	T	T	?
<i>E. longissima</i> var. <i>azatlensis</i> JE-3741	C	T	T	C	T	G	G	A	C	C	C	T	T	T	C
<i>E. longissima</i> subsp. <i>brachyantha</i> JE-5593	C	T	T	C	T	C	G	A	C	C	C	C	T	T	T
<i>E. purpusorum</i> JE-6338	C	T	T	T	T	C	A	A	T	C	C	T	C	C	C
<i>E. purpusorum</i> JE-9081	C	T	T	T	T	C	A	A	T	C	C	T	C	C	?
<i>E. purpusorum</i> LED-131	C	T	T	T	T	C	A	A	T	C	C	T	C	C	?
<i>E. setosa</i> var. <i>setosa</i> JE-8552	C	G	C	C	C	T	G	G	C	T	T	C	T	C	?
<i>E. setosa</i> var. <i>setosa</i> JE-9092	C	G	C	C	C	T	G	G	C	T	T	C	T	C	?
<i>E. setosa</i> var. <i>ciliata</i> JE-5152	C	G	C	C	T	T	G	G	C	T	T	C	T	C	?
<i>E. setosa</i> var. <i>deminuta</i> JE-3795	C	G	C	C	C	T	G	G	C	T	T	A	T	C	?

TABLE 5. Sitios diagnósticos en la región del cloroplasto *rbcl*.

Especie/Sitio	121	295	427
<i>E. islasiae</i> JE-8823	A	G	A
<i>E. longissima</i> var. <i>aztatlensis</i> JE-3741	A	G	A
<i>E. longissima</i> var. <i>longissima</i> JE-9091	A	G	A
<i>E. longissima</i> subsp. <i>brachyantha</i> JE-5593	A	G	A
<i>E. purpusorum</i> JE-6338	A	G	G
<i>E. purpusorum</i> JE-9081	A	G	A
<i>E. purpusorum</i> LED-131	A	G	A
<i>E. setosa</i> var. <i>ciliata</i> JE-5152	G	A	A
<i>E. setosa</i> var. <i>deminuta</i> JE-3795	A	G	A
<i>E. setosa</i> var. <i>setosa</i> JE-8552	G	N	A
<i>E. setosa</i> var. <i>setosa</i> JE-9092	A	G	A

molecularmente del resto de los taxones de *Longistylae* y *Ciliatae* por la combinación de dos sitios diagnósticos, uno de los cuales se encuentran en la región del cloroplasto *matK* (Table 3) y uno en la región nuclear ITS2 (Table 4), mientras que la región *rbcl* no puede diferenciar a los taxa seleccionados (Table 5). Aunque debe señalarse que *E. longissima* var. *aztatlensis*, *E. longissima* subsp. *brachyantha*, *E. longissima* var. *longissima* y *E. islasiae* están representadas por un único individuo, mientras que, *E. purpusorum* está representada por tres individuos.

Especímenes adicionales examinados de taxa relacionados. *Echeveria longissima* var. *aztatlensis*. **México. Oaxaca:** San Francisco Teopan, a 1 Km Sur de San Francisco Teopan, 17°50'21.2"N, 97°29'22.2"W, 2269 m, 20 Nov 2011, *J. Reyes 6548* (MEXU).

Echeveria longissima subsp. *brachyantha*. **México. Oaxaca:** San Sebastián Nicananduta, a 11 km de la desviación de Nundoo a Nicananduta, 17°32'9"N, 97°40'39"W, 2263 m, 12 Ago 2012, *J. Reyes 7931* (MEXU); San Miguel el Grande, Cerro Yucunino, 12 km de Tlaxiaco a San Miguel el Grande, 17°6'18.1"N, 97°37'31.7"W, 2880 m, 8 Jul 2014, *J. Reyes 5593* (MEXU).

Echeveria longissima var. *longissima*. **México. Oaxaca:** San Pedro Nopala, Terracería San Pedro Nopala-Yocosuno, 17°50'1.4", 97°32'58.8", 2540 m, 2 Jul 2011, *J. Reyes 7099* (MEXU); San Juan Dumí, Cerro del Llano, a 4 km del poblado Peña Colorada, 17°30'26"N, 97°49'34"W, 2120 m, 2 febrero 2018, *J. Reyes 9091* (MEXU).

Echeveria purpusorum. **México. Oaxaca:** Santiago Ihuitlán Plumas, Cañada Grande entre San Antonio Abad-La Mexicana, 17°54'51.07"N, 97°28'49.61"W, 2089 m, 3 May 2013, *J. Reyes 6338* (MEXU). **Puebla:** Santa Inés Ahuatempa, Cañada Agua Escondida a 3 km sureste de Ahuatempa, 18°23'42"N, 97°59'33"W, 1750 m, 31 Ene 2018, *J. Reyes 9081* (MEXU); Zapotitlán Salinas, Cerro Grande, 1 km al sur de Zapotitlán, 18°18'14.682"N, 97°27'19.8", 1500 m, 13 Feb 2011, *L.E. de la Cruz 131* (MEXU).

Agradecimientos

Los autores del artículo agradecemos el financiamiento para la obtención de los datos generados aquí a los programas UNAM-DGAPA-PAPIIT [IN212015, Taxonomía integrativa y códigos de barras genéticos en *Echeveria* (Crassulaceae) otorgado al Dr. Francisco Vergara-Silva], a CONACYT [Proyecto número 247,078, "Iniciativa interdisciplinaria para el aprovechamiento sustentable del género *Echeveria* (Crassulaceae), plantas con potencial hortícola para la producción en áreas rurales de México" otorgado al Dr. Francisco Vergara-Silva, así como al proyecto [LANABIO: 232746 "Laboratorio Nacional de Biodiversidad"]. Luis Emilio de la Cruz López agradece, además, al programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM y la beca otorgada por el CONACYT. Agradecemos a los revisores anónimos y al editor asociado de *Brittonia* por sus valiosas observaciones para el mejoramiento sustancial del manuscrito.

Literature cited

- Davis, J. I. & K. C. Nixon. 1992. Populations, genetic variation, and the delimitation of phylogenetic species. *Systematic Biology* 41: 421–435.
- De la Cruz-López, L. E., F. Vergara-Silva, J. Reyes, G. Espino, P. Carrillo-Reyes & M. Kuzmina. 2019. Phylogenetic relationships of *Echeveria* (Crassulaceae) and related genera from Mexico, based on three DNA barcoding loci. *Phytotaxa* 422: 33–57.
- DeSalle, R., M. G. Egan & M. Siddall. 2005. The unholo trinity: taxonomy, species delimitation and DNA

- barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360: 1905–1916.
- Goldstein, P. Z. & R. DeSalle.** 2011. Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: determination, discovery, and description. *Bioessays* 33: 135–147.
- Jörger, K. M. & M. Schrödl.** 2014. How to use CAOS software for taxonomy? A quick guide to extract diagnostic nucleotides or amino acids for species descriptions. *Spixiana* 37: 21–36.
- Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Mentjies & A. Drummond.** 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647–1649.
- Kimmach, M.** 2003. *Echeveria*. Pp. 103–128. *En: Eggl, U.* (ed.), *Illustrated handbook of succulent plants: Crassulaceae*. Springer-Verlag, Berlin.
- Lanfeer, R., B. Calcott, S. Ho & S. Guindon.** 2012. PartitionFinder: Combined Selection of Partitioning Schemes and Substitution Models for Phylogenetic Analyses. *Molecular Biology and Evolution* 29: 1695–1701.
- Meyrán, J.** 1982. Una variedad de *Echeveria longissima*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 27: 33–36.
- Meyrán, J. & L. López.** 2003. Las crasuláceas de México. *Sociedad Mexicana de Cactología, A.C. Ciudad de México*.
- Moran, R.** 1961. *Echeveria ciliata*. *Cactus and Succulent Journal of America* 33: 131–140.
- Nicolalde-Morejón, F., F. Vergara-Silva, J. González-Astorga & D. Stevenson.** 2010. Character-based, population-level DNA barcoding in Mexican species of *Zamia* L. (Zamiaceae: Cycadales). *Mitochondrial DNA* 21: 51–59.
- Rach, J., R. DeSalle, I. N. Sarkar, B. Schierwater & H. Hadrys.** 2008. Character-based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in *Odonata*. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences* 275: 237–247.
- Ratnasingham, S. & P. D. N. Hebert.** 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes* 7: 355–364.
- Reyes, S. J., C. Brachet, O. González-Zorzano, A. Islas & L. López.** 2015. Four new taxa of the genus *Echeveria* from the state of Oaxaca, Mexico. *Haseltonia* 21: 80–91.
- Sarkar, I. N., P. J. Planet & R. Desalle.** 2008. CAOS software for use in character-based DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources* 8: 1256–1259.
- Stöver, B.C. & K. F. Müller.** 2010. TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. *BMC Bioinformatics* 11: 1–9.
- Trifinopoulos, J., L. T. Nguyen, A. von Haeseler & B. Q. Minh.** 2016. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research* 44: 232–235.
- Walther, E.** 1938. Notes on the genus *Echeveria*. *Cactus and Succulent Journal of America* 9: 147.
- Walther, E.** 1959. *Echeveria: conspectus serierum*. Leaflets of *Western Botany* 9: 1–4.
- Walther, E.** 1972. *Echeveria*. *California Academy of Sciences*, San Francisco.