



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

PABLO EMANUEL DEL VALLE RODRIGUEZ

GRADIENTE LATITUDINAL DE TAMANHO DO GENOMA EM CACTACEAE:
ANÁLISE DE REPRESENTANTES DAS SUBFAMÍLIAS CACTOIDEAE,
PERESKIOIDEAE E OPUNTIOIDEAE

Recife
2020

PABLO EMANUEL DEL VALLE RODRIGUEZ

GRADIENTE LATITUDINAL DE TAMANHO DO GENOMA EM CACTACEAE:
ANÁLISE DE REPRESENTANTES DAS SUBFAMÍLIAS CACTOIDEAE,
PERESKIOIDEAE E OPUNTIOIDEAE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Sistemática e evolução.

Orientador: Profº. Dr. Gustavo Souza

Recife

2020

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Rodriguez, Pablo Emanuel del Valle

Gradiente latitudinal de tamanho do genoma em Cactaceae : análise de representantes das subfamílias Cactoideae, Pereskioideae e Opuntioideae / Pablo Emanuel del Valle. - 2020.

104 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Souza.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Recife, 2020.

Inclui referências e anexos.

1. Genética vegetal. 2. Genoma. 3. Plantas – Adaptação. I. Souza, Gustavo (orientador). II. Título.

634.90981

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2020-127

PABLO EMANUEL DEL VALLE RODRIGUEZ

GRADIENTE LATITUDINAL DE TAMANHO DO GENOMA EM CACTACEAE:
ANÁLISE DE REPRESENTANTES DAS SUBFAMÍLIAS CACTOIDEAE,
PERESKIOIDEAE E OPUNTIOIDEAE

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia Vegetal da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Aprovada em: 20 /02 /2020

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Gustavo Rodrigues Souza (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Magdalena Vaio Scvortzoff (Examinadora Externa)
Universidad de la Republica – Uruguay

Prof^a. Dr^a. Andrea Pedrosa Harand (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

*A Mariela e Emilio, minha família amada,
por todo o amor e apoio incondicional na vida e em todas as minhas iniciativas*

Agradecimentos

Nesses anos de mestrado, de muito estudo, esforço e empenho, gostaria de agradecer a algumas pessoas que me acompanharam e foram fundamentais. Neste sincero parágrafo, no final de uma etapa desafiadora da minha vida, quero agradecer a todos aqueles que contribuíram com seu esforço e dedicação ao meu lado para que este projeto possa se concretizar. A todas as pessoas que direta e indiretamente estiveram presentes no início e durante o desenvolvimento dessa grande empresa.

A **Mariana Báez**, por sua grande e genuína amizade, pela ajuda e suporte constante desde o início, por compartilhar sua autêntica filosofia de vida, por todos os conselhos, por todos os bons tempos compartilhados.

A **Bruno Amorim** e **Tiago Esposito** e **Erton Almeida**, pela amizade e sinceridade, por compartilhar momentos agradáveis em família e amizade verdadeira. Por sua ajuda profissional em muitas etapas em que suas colaborações e ensinamentos foram indispensáveis.

A **Yennifer Mata** e **Herberth Haeusler**, por sua amizade sincera e espontânea, pela confiança, por estar prontos para me ajudar sempre que necessário, e especialmente por compartilhar seu senso característico de humor e vida.

A **Lucas Costa**, pela amizade e por sua ajuda nos inícios do meu mestrado.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Gustavo Souza**, pela constância e convicção, por acreditar nas minhas capacidades, pela sua motivação permanente e inspiração no meu caminho profissional; pela sua amizade a da sua família Karol e o pequeno João.

A **Prof. Dr. Andrea Pedrosa-Harand** e o **Prof. Marcelo Guerra**, pela perseverança e dedicação profissional e pessoal para tornar nosso local de trabalho um ambiente agradável e profissional como pessoal. Também quero agradecer por estender sua sincera amizade que agradeço e que sempre me acompanhará.

A todas as pessoas, meus amigos e colegas, que me acompanharam todos os dias no Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal, àquelas que fizeram ou fazem parte ainda hoje, agradeço as experiências agradáveis e os momentos compartilhados, as discussões científicas e as conversas descontraídas do café: Mariana, Bruno, Tiago (Espositão), Erton, Yennifer, Amália, Marcus Braun, André, Lucas, Yhanndra, Gustavinho (cinza), Paulo, Fernanda, Jéssica, Amanda, Amanda, Brena, Bruna, Rayssa, Natália, Cláudio, Géssica, Tiago Ribeiro, Ana, Daniela, Sandra, Eduarda, Lamonier, Karol, Thalitha.

Estendo meus agradecimentos aos funcionários da UFPE, bem como aos funcionários da **Pós-Graduação em Biologia Vegetal**, em especial ao pessoal administrativo, pela ajuda, paciência e constantes esclarecimentos de dúvidas durante a minha permanência no programa.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES). Agradeço esta instituição pelo apoio financeiro e, principalmente pelo interesse nesse estudo.

Agradecimentos especiais

Meus sinceros e mais profundos agradecimentos só podiam ser dedicados ao meu povo favorito: minha esposa e meu filho. Para você **Mariela**, sempre ao meu lado o tempo todo, incondicionalmente. Nos momentos mais difíceis, que não foram raros neste último ano, você sempre me fez acreditar que eu seria vitorioso no final deste estágio difícil, porém gratificante. Para você **Emilio**, porque com sua energia da vida e seus olhos felizes me deu a

convicção e a força para continuar vencendo todos os dias, e especialmente pela paciência e resistência que me permitiram realizar esse sonho.

Sou grato por todo gesto amoroso, todo sorriso e quero estar com vocês pelo resto da minha vida. Este período nos mostrou a verdade sobre o nosso relacionamento: somos uma família! Obrigado por ser a melhor parte da minha vida.

RESUMO

O tamanho do genoma (TG) apresenta uma ampla variação entre as plantas, de modo que é possível encontrar organismos com um genoma relativamente pequeno, até alguns com um genoma 2.200 vezes maior. Entre os processos que geram um aumento no conteúdo de DNA, a poliploidia é um dos mais frequentes e com efeito a mais curto prazo, juntamente com o acúmulo variável de DNA repetitivo não-codificante, como elementos transponíveis, DNA de satélite, íntrons e pseudogenes, com efeito a mais longo prazo. As características citológicas, morfológicas e fisiológicas das plantas influenciam a maneira como elas interagem com o ambiente, e várias correlações entre o TG e características fenotípicas revelaram possíveis papéis ecológicos da variação no conteúdo de DNA. Estudos que abordam variação no conteúdo de DNA entre gradientes ambientais mostraram correlações positivas, negativas ou não-correlação entre o TG e variáveis ecológicas, dependendo do grupo estudado. A resposta dos organismos aos desafios ambientais que enfrentam nos locais onde vivem está relacionada à quantidade de DNA. De acordo com isso, diferentes grupos de plantas prevalecem em maior ou menor grau, dependendo do tamanho de seu genoma. Porém, os gradientes de latitude, especialmente, tendem a mostrar padrões contrastantes em relação à quantidade de DNA e às distribuições geográficas de diferentes grupos de plantas. Embora se saiba que o tamanho do genoma sofra pressões de seleção dependendo de diferentes condições ambientais e estratégias de vida, as causas da evolução de sua variação nas linhagens e suas consequências biológicas ainda não foram compreendidas. No presente trabalho, testamos como o TG de representantes da família Cactaceae, que está altamente especializada para a aridez, varia e se correlaciona com parâmetros ambientais e latitude. Para tanto, foram utilizadas estimativas originais por citometria de fluxo de nove espécies de *Melocactus* e *Pereskia bleo* e dados de 59 espécies dos gêneros *Pereskia*, *Hylocereus*, *Mammillaria* e *Opuntia* obtidas na literatura, juntamente com regressões lineares de Pearson e contrastes independentes filogenéticos (PIC) para levar em consideração as relações filogenéticas nesses cinco gêneros. Os valores de 2C variaram 3,42 vezes, de 2C = 1,85 pg em *Pereskia aculeata* a 2C = 8,23 pg em *Opuntia tomentosa*. Em *Mammillaria*, as análises de correlação PIC e Pearson mostraram que a precipitação é um fator importante para a variabilidade da TG, com genomas menores associados a ambientes com maior disponibilidade de água. Em contraste, os padrões de *Hylocereus* sugeriram que espécies com genomas menores prevalecem em áreas onde a chuva é altamente variável e sazonal, enquanto genomas maiores dependem de maior precipitação anual constante. Embora seja possível que

Hylocereus habite um ambiente desafiador para cactos, onde a expansão de seu genoma possa representar alguma vantagem ainda desconhecida, a evolução de TG maiores pode ser simplesmente mais permissível em habitats com períodos de crescimento mais longos, onde a seleção para um crescimento mais rápido pode ser relaxada. Nossos dados mostraram que a plasticidade do genoma em Cactaceae pode ser outro exemplo da influência dessas variáveis ambientais na diversidade do conteúdo de DNA nessa família.

Palavras-chave: Conteúdo de DNA. Citometria de fluxo. Variáveis ambientais. Bioma das
suculentas

ABSTRACT

Genome size (GS) displays a broad variation across plants varies widely between plants, making it possible to find anything from organisms with a relatively small genome to some with a 2,200-fold larger genome. Among the processes that increase DNA content, polyploidy is one of the most frequent, and with a short-term effect, together with the variable accumulation of repetitive non-coding DNA, such as transposable elements, satellite DNA, introns, and pseudogenes, with a longer-term effect. Plant cytological, morphological, and physiological characteristics influence the way they interact with the environment, and several correlations between GS and phenotype revealed possible ecological roles of the variation in DNA content. Studies addressing variation in DNA content across environmental gradients showed either positive, negative or non-correlation between GS and ecological variables depending on the group studied. Organism's responses to the environmental challenges they confront in the places they inhabit is related to their amount of DNA. Accordingly, different groups of plants prevail to a greater or lesser extent, depending on the size of their genome. Though, latitude gradients, especially, tend to show contrasting patterns between different plant groups in relation to their amount of DNA and geographic distributions. Although it is known that genome size undergoes selection pressures depending on different environmental conditions and life-history strategies, the causes of the evolution of its variation across lineages and its biological consequences remain unveiled. In the present work, we tested how GS of representatives of the highly specialized family Cactaceae vary and correlate with environmental parameters and latitude. For that purpose, we used flow cytometry original estimates from nine species of *Melocactus* and *Pereskia bleo*, and data of 59 species of *Pereskia*, *Hylocereus*, *Mammillaria* and *Opuntia* genera obtained from the literature, together with Pearson linear regressions, and phylogenetic independent contrasts (PIC) to account for phylogenetic relationships. 2C-values varied 3.42-fold, from $2C = 1.85$ pg in *Pereskia aculeata* to $2C = 8.23$ pg in *Opuntia tomentosa*. In *Mammillaria*, both PIC and Pearson correlation analysis showed that precipitation is an important factor for GS variability linking smaller genomes to higher water input environments. Contrastingly, *Hylocereus* patterns suggested that species with smaller genomes prevail in areas where rain is highly variable and seasonal, while larger genomes depend on higher constant annual precipitation. Although it may imply that *Hylocereus* inhabits a challenging environment for cacti, where the expansion of its genome may represent some still unknown advantage, the evolution of larger GS may simply be more permissible in habitats with longer growing seasons where selection for more

rapid growth may be relaxed. Our data showed that the genome plasticity in Cactaceae might be another example of the influence of these environmental variables on genome size diversity among cacti.

Keywords: DNA content. Flow cytometry. Environmental variables. Succulent biome

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1	TAMANHO DO GENOMA.....	14
2.1.1	Definição e aplicações.....	14
2.1.2	Métodos para quantificação do conteúdo de DNA nuclear.....	15
2.1.2.1	Citometria de fluxo.....	15
2.1.2.1.1	<i>Conceito e princípios</i>	<i>15</i>
2.1.2.1.2	<i>Aplicações</i>	<i>17</i>
2.2	VARIAÇÃO DO TAMANHO GENÔMICO	18
2.2.1	Níveis de variação do tamanho genômico	18
2.2.2	Causas da variação do tamanho genômico	19
2.2.3	Consequências da variação no tamanho genômico	20
2.3	TAMANHO GENÔMICO E FILOGENIA	21
2.3.1	Métodos comparativos filogenéticos	22
2.3.2	Sinal filogenético do tamanho genômico	23
2.4	GRADIENTES LATITUDINAIS E TAMANHO DO GENOMA	24
2.5	CACTACEAE	26
2.5.1	Biologia das cactáceas	26
2.5.2	Centros de origem e distribuição geográfica	26
2.5.3	Gêneros estudados.....	27
2.5.4	Números cromossômicos.....	29
2.5.5	Conteúdo de DNA nuclear.....	29
3	RESULTADOS	31
3.1	ARTIGO: SHIFTS IN ECOLOGICAL VARIABLES DRIVE GENOME SIZE DIVERSITY ACROSS LATITUDINAL GRADIENTS IN CACTACEAE?	31
4	CONCLUSÕES.....	77

REFERÊNCIAS.....	78
ANEXO A - NORMAS DE SUBMISSÃO PARA A REVISTA “GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY”	89

1 INTRODUÇÃO

O tamanho do genoma (valor C), que expressa a quantidade de DNA no núcleo gamético não replicado, é um caráter-chave para o entendimento da biodiversidade e tem facilitado estudos de evolução e especiação em vários grupos de plantas. Varia grandemente entre as plantas, abrangendo três ordens de magnitude entre as angiospermas, exibindo organismos com genomas pequenos, com $1C = 0,07$ pg como *Genlisea tuberosa*, até organismos com genomas gigantes, 2200 vezes maiores, como em *Paris japonica*. Apesar de alguns estudos terem evidenciado uma forte dependência filogenética do tamanho genômico, apenas alguns trabalhos quantificaram o sinal filogenético do conteúdo de DNA numa amostragem ampla. Embora alguns trabalhos tenham demonstrado que o ambiente pode impactar na variação do tamanho do genoma, ainda são desconhecidos os mecanismos pelos quais essa interação se dá.

Cactaceae é uma família que apresenta uma alta especificidade ecológica e uma ampla distribuição geográfica. Trata-se de uma família Neotropical, composta por mais de 1.450 espécies classificadas em ca. 127 gêneros, com distribuição concentrada em florestas tropicais sazonalmente secas, ou “bioma das suculentas”. A principal característica desse bioma é uma estação seca prolongada, onde as precipitações ocorrem nas estações úmidas e a vegetação é decídua. A distribuição atual desse bioma na América do Sul é descontínua e evidências fósseis e climáticas indicam que o bioma das suculentas é relativamente antigo, datando do Eoceno. Neste sentido, tem sido observado que as filogenias moleculares de grupos nele distribuídos apresentam alto conservadorismo de nicho e são linhagens antigas. Segundo diversos estudos, a origem da diversidade das cactáceas coincide com a expansão do bioma das suculentas pelo continente americano.

Deste modo, Cactaceae é um excelente objeto de estudo citogeográfico para investigar relação entre o tamanho do genoma e variáveis ambientais, uma vez que possui estabilidade no número cromossômico básico ($x = 11$), alta especificidade no tipo de habitat, ampla distribuição e elevada variabilidade ecológica e de conteúdo de DNA. Assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar a variação no conteúdo de DNA nuclear num contexto filogenético em cactáceas, especificamente em representantes das subfamílias Cactoideae (gênero *Melocactus*, *Mammillaria* e *Hylocereus*), Opuntioideae (gênero *Opuntia*) e Pereskioideae (gênero *Pereskia*). Adicionalmente, analisamos a diversificação do tamanho do genoma nesses gêneros em relação a sua distribuição geográfica, correlacionando os conteúdos de DNAs com variáveis ambientais por métodos filogenéticos comparativos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 TAMANHO DO GENOMA

2.1.1 Definição e aplicações

O tamanho do genoma em um sentido amplo diz respeito à quantidade de DNA contido no núcleo da célula. Mais especificamente, refere-se ao tamanho do genoma holoplóide (PELLICER et al., 2018), isto é, o conteúdo do DNA que está presente no complemento cromossômico gamético não replicado (associado ao número n característico de cada organismo), e que convencionalmente é denominado de valor C (DOLEŽEL; GREILHUBER, 2010; GREILHUBER et al., 2005).

O estudo da quantidade de DNA nuclear é fundamental para a compreensão geral do genoma de um organismo, e o tamanho do genoma é um caráter de importância biológica amplamente utilizado em diversas áreas da biologia celular e biologia molecular, melhoramento de plantas, fisiologia e desenvolvimento (BENNETT; BHANDOL; LEITCH, 2000; DÍEZ et al., 2013). A quantificação do DNA nuclear também possui aplicação em áreas da ecologia, meio ambiente e conservação, sendo chave em análises de biodiversidade (LEITCH et al., 2009), estudos de evolução e especiação em vários grupos de angiospermas (HIREMATH; NAGASAMPIGE, 2004; LAS PEÑAS et al., 2014; OHRI, 1998; PUTTICK; CLARK; DONOGHUE, 2015; SADER et al., 2019). Assim, a compreensão dos padrões de distribuição e evolução do valor C é importante em várias áreas da biologia vegetal.

As plantas são especialmente interessantes visto que exibem a maior variabilidade de conteúdo de DNA entre os eucariotos (PELLICER et al., 2018). Essa ampla variação é observável desde grandes níveis taxonômicos até intra-genéricos ou entre populações geograficamente separadas da mesma espécie (JAKOB; MEISTER; BLATTNER, 2004; KELLY et al., 2015; SCHMUTHS et al., 2004; ŠMARDÁ; BUREŠ, 2006). O significado biológico dessa plasticidade no tamanho do genoma ainda intriga os cientistas evolucionistas. Recentemente, o tamanho do genoma tem sido cada vez mais investigado de uma perspectiva evolutiva. Vários estudos relataram correlações entre o conteúdo de DNA e fenótipo, como características citológicas, morfológicas e fisiológicas, como por exemplo tamanho da célula, duração do ciclo celular, tamanho do cromossomo, padrões de heterocromatina, taxas metabólicas (GROTKOPP et al., 2004; KNIGHT; BEAULIEU, 2008; SIMONIN; RODDY, 2018; VAN-LUME et al., 2017). Como essas características afetam a interação das plantas

com o meio ambiente, esses achados apontam para uma série de possíveis papéis ecológicos da variação do tamanho do genoma.

2.1.2 Métodos para quantificação do conteúdo de DNA nuclear

Entre as primeiras abordagens usadas para a estimativa do conteúdo de DNA nuclear estão a análise química (SCHMIDT; THANNHAUSER, 1945) e a cinética de reassociação (BRITTEN; KOHNE, 1968). Ambos se baseavam na medição do DNA extraído de um grande número de células. Isto trazia erros ao determinar o valor-C real por incluir conjuntamente células em diferentes fases do ciclo e com diferentes quantidades de DNA. As abordagens subsequentes aumentaram a precisão dos resultados medindo núcleos únicos. Entre essas técnicas, destaca-se a microdensitometria por coloração Feulgen (FEULGEN; ROSSENBECK, 1924), que utiliza um corante específico para o DNA na coloração dos núcleos, quantificando a absorção da luz monocromática visível (SWIFT, 1950). Posteriormente, o desenvolvimento da microespectrofotometria de varredura (DEELEY, 1955) permitiu eliminar erros devido a núcleos e cromossomos irregulares com cromatina corada não homogênea (revisado em DOLEŽEL; BARTOŠ, 2005). A microdensitometria por coloração Feulgen foi amplamente usada por ser considerada como a metodologia mais confiável em relação aos métodos químicos e a reassociação. No entanto, além de problemáticas inerentes a diferenças metodológicas que impediram a comparação entre resultados obtidos (GREILHUBER et al., 2005), a técnica é relativamente trabalhosa e o tempo necessário para a acumulação de um grande volume de dados é bastante alto (MICHAELSON et al., 1991). A microdensitometria de Feulgen dominou o campo até o início dos anos 80, quando foi gradualmente substituída pela citometria de fluxo, que oferece uma abordagem conveniente e maior desempenho.

2.1.2.1 Citometria de fluxo

2.1.2.1.1 Conceito e princípios

A citometria de fluxo é um dos métodos atualmente preferidos e mais utilizados para estimar e estudar o tamanho genômico em plantas (BENNETT; BHANDOL; LEITCH, 2000; COSTICH; MEAGHER; YURKOW, 1991; OHRI, 1998). Embora essa técnica tenha sido usada excepcionalmente na quantificação de DNA em plantas, ela tem desempenhado um papel importante na investigação do tamanho do genoma animal (DOLEŽEL;

GREILHUBER, 2010) e em pesquisas em seres humanos (DOLEŽEL; BARTOŠ, 2005; SHAPIRO, 2003).

A citometria de fluxo é realizada por meio do citômetro de fluxo, o qual possibilita a medição, contagem e / ou classificação de populações de células e partículas de acordo com suas características físicas e químicas (BONNEVIER; HAMMERBECK; GOETZ, 2018; PELLICER; LEITCH, 2014). Os primeiros citômetros de fluxo quantificaram o DNA nas células humanas, medindo a absorvância da luz UV. Posteriormente e até hoje, o conteúdo de DNA foi determinado indiretamente através da medição da emissão de fluorescência. Essa fluorescência gera sinais eletrônicos que são convertidos em sinais digitais e exibidos na forma de gráficos, sejam histogramas ou dotplots (SHAPIRO, 2003). A utilização dessa técnica possibilita examinar rapidamente dezenas de milhares de partículas de uma amostra em pouco tempo (BONNEVIER et al., 2018; BONNEVIER; HAMMERBECK; GOETZ, 2018; PELLICER; LEITCH, 2014).

A citometria de fluxo tem demonstrado ser confiável e eficiente para a análise do genoma vegetal devido à precisão e reprodutibilidade da análise, uma vez que coeficientes de variação inferiores a 5% são frequentemente obtidos (GALBRAITH et al., 2001). Além disso, a amostra é facilmente preparada, uma vez que requer uma pequena quantidade de material vegetal, além de ser uma técnica rápida, permitindo a análise de inúmeras amostras em um único dia (SOUZA et al., 2004).

Antes dos primeiros protocolos para planta serem desenvolvidos, o conteúdo de DNA de animais já era quantificado por esta técnica (EISERT; OSTERTAG; NIEMANN, 1975). A análise por citometria de fluxo dos núcleos vegetais foi inicialmente considerada problemática devido à presença de parede celular rígida, tecidos espessos e componentes citosólicos interferentes. No entanto, essas dificuldades foram superadas após o estabelecimento de um método rápido e conveniente de isolamento dos núcleos desenvolvido por Galbraith et al. (1983). Segundo esse trabalho, uma pequena quantidade de tecido foliar (10-20 mg) é cortada (*chopping*), usando uma lâmina de barbear, para produzir a quebra da parede celular em um tampão para o isolamento dos núcleos. A composição do tampão de isolamento do núcleo é crítica, já que contém componentes básicos necessários para proteger o DNA da degradação, manter a integridade e estabilidade mecânica dos núcleos (DOLEŽEL, 1991; DOLEŽEL; BARTOŠ, 2005), reduzir o efeito de compostos citosólicos interferentes e impedir a precipitação de detritos celulares (LOUREIRO et al., 2006). A solução resultante é filtrada e corada com um fluorocromo intercalante à molécula de DNA, permitindo que a fluorescência emitida por estes núcleos seja diretamente proporcional ao seu conteúdo de DNA

(DOLEŽEL; GREILHUBER, 2010; PELLICER; LEITCH, 2014). No citômetro, o homogenato de partículas em suspensão (células ou núcleos celulares) passam através de um tubo capilar transparente sobre o qual incide um fino feixe de luz laser de comprimento de onda conhecido. Nos citômetros de fluxo modernos, a amostra é hidrodinamicamente focada, o que permite que uma única partícula flua de cada vez através do tubo capilar (BONNEVIER et al., 2018). As células ou partículas que se destinam a ser estimadas são coradas com marcadores fluorescentes (*fluorocromos*), de modo que a luz do laser que as atinge é primeiramente absorvida e posteriormente emitida em uma faixa de comprimento de onda maior. A luz transmitida e dispersa pela passagem das partículas através do tubo, que é característica para as partículas e seus componentes, é coletada por meio de dispositivos de detecção (*fotomultiplicadores*) e transmitida eletronicamente a um computador para posterior análise e processamento, permitindo fazer inferências sobre tamanho, volume e complexidade estrutural das partículas.

É ampla a gama de fluorocromos que pode ser usada para marcação fluorescente em citometria de fluxo. Os fluorocromos são escolhidos para reconhecer uma molécula alvo específica na superfície ou no interior das células ou partículas, e cada um possui um pico característico de excitação e também um comprimento de onda característico de emissão (GOETZ; HAMMERBECK, 2018). Dentre os fluorocromos mais utilizados destaca-se o iodeto de propídeo, fluorocromo intercalante sem preferência por base nitrogenada que, em relação a outros (DAPI, ou brometo de etídeo), apresenta menor variação entre medições (DOLEŽEL; BARTOŠ, 2005), sendo o mais recomendado para citometria de fluxo em plantas (PELLICER; LEITCH, 2014).

2.1.2.1.2 Aplicações

A citometria de fluxo tem diversas aplicações que envolvem áreas como a biologia molecular, imunologia, parasitologia, microbiologia, biologia vegetal e marinha. Possui ampla aplicação na medicina, principalmente em transplantes, hematologia (contagem e dimensionamento de células sanguíneas e determinação de suas características e estados de diferenciação), diagnóstico de câncer, imunologia de tumores e quimioterapia, diagnóstico pré-natal, genética e seleção de espermatozoides para uma pré-seleção de sexo. Na microbiologia é usada na detecção e contagem de bactérias, algas e fungos. Na biologia marinha, as propriedades autofluorescentes do plâncton fotossintético foram exploradas para caracterizar a abundância e a estrutura da comunidade. Na engenharia de proteínas, a

citometria de fluxo é usada em conjunto com as técnicas de expressão de leveduras e expressão bacteriana, para identificar as proteínas expressas na superfície celular que possuem as características desejadas. Na biologia vegetal é utilizada na análise e classificação de cromossomos vegetais (*flow sorting*) em citômetros especiais com capacidade de classificação. Também foi usada em medições da fluorescência da clorofila e outros pigmentos naturais, bem como medições do conteúdo de proteínas e ácidos nucleicos e antígenos específicos usando sondas extrínsecas foram feitas em células vegetais (revisado por SHAPIRO, 2003). Já a análise do conteúdo de DNA nuclear por citometria de fluxo é útil não apenas para a determinação do tamanho do genoma, mas também para a determinação de variações no nível de ploidia, detecção de híbridos intraespecíficos, endoreduplicação e citotaxonomia (BENNETT; BHANDOL; LEITCH, 2000; COSTICH; MEAGHER; YURKOW, 1991; OHRI, 1998).

2.2 VARIAÇÃO DO TAMANHO GENÔMICO

2.2.1 Níveis de variação do tamanho genômico

Em todas as angiospermas, o tamanho do genoma tem se revelado especialmente diverso, variando acima de 2,200 vezes entre *Genlisea tuberosa* (Lentibulariaceae), uma angiosperma carnívora endêmica do Brasil com apenas $1C = 0.07$ pg, até o genoma gigantesco de *Paris japonica* (um lírio monocotiledôneo na família Melanthiaceae) com aproximadamente 152.20 pg (PELLICER et al., 2018).

Não obstante, a maioria das angiospermas possui genomas pequenos com um conteúdo de DNA médio de 5.14 ± 8.94 pg, com base em estimativas por citometria de fluxo de 10762 espécies de angiospermas disponível no banco de dados do *Royal Botanic Garden Kew*, de Londres (LEITCH et al., 2019). Essa ampla variação não é apenas observável entre grandes níveis taxonômicos, mas também no nível intra-genérico ou entre populações da mesma espécie geograficamente separadas. Já dentro de um gênero pode haver variação de 40 vezes entre espécies do mesmo nível de ploidia, como por exemplo em *Fritillaria*, Liliaceae (KELLY et al., 2015), até 70 vezes, como ocorre no gênero *Oxalis*, Oxalidaceae (VAIO et al., 2016). A variação entre populações pode alcançar um 15% em *Zea mays* ssp. *mexicana* (BILINSKI et al., 2018) até dobrar o conteúdo de DNA em espécies de *Hordeum* (JAKOB; MEISTER; BLATTNER, 2004), *Festuca pallens* (ŠMARDÁ; BUREŠ, 2006) e *Arabidopsis thaliana* (SCHMUTHS et al., 2004).

2.2.2 Causas da variação do tamanho genômico

Vários mecanismos, tanto nos níveis cromossômico como molecular, são capazes de gerar mudanças no tamanho do genoma, causando sua expansão ou redução (BENNETZEN, 2002; PELLICER et al., 2018; PELLICER; FAY; LEITCH, 2010). A poliploidia, ou duplicação do genoma completo (WGD, do inglês *whole genome duplication*), é definida como a condição de possuir mais de dois conjuntos cromossômicos. Dentre os processos que geram um aumento no conteúdo de DNA, a poliploidia é um dos mais frequentes (BENNETZEN, 2002). No entanto e paralelamente, a perda de DNA após poliploidia, ou *genome downsizing*, é um fenômeno igualmente generalizado nas angiospermas e causa redução no tamanho do genoma (LEITCH; BENNETT, 2004; TATE; SOLTIS; SOLTIS, 2005). Devido à prevalência de poliploidia em plantas, vários autores propuseram que a condição poliploide proporcionaria uma vantagem seletiva sobre a condição diploide (SOLTIS; SOLTIS, 2000), uma vez que a mesma seria uma fonte de geração de novas variantes genéticas, bioquímicas e evolutivas (SOLTIS et al., 2016), facilitando o aumento da diversidade genética (neofuncionalização e subfuncionalização de genes). Além disso, pesquisas recentes sobre o cenário genômico de genomas diminutos sugerem que eventos recentes de poliploidia também podem desempenhar um papel contrário ao *downsizing* do genoma, impedindo a perda de genes essenciais em casos extremos (PELLICER et al., 2018).

Ademais de poliploidia, os genomas podem variar através de outros processos, como o ganho (por exemplo, disploidia ascendente via fissão cromossômica) ou perda (por exemplo, disploidia descendente por fusão cromossômica) de cromossomos (SADER et al., 2019; SCHUBERT; LYSACK, 2011), e presença de cromossomos supranumerários ou sexuais. Porém, a maior causa de variação é representada pelo acúmulo de diferentes tipos de elementos pertencentes à fração repetitiva de DNA do genoma (DNA repetitivo não-codificador), tais como elementos transponíveis, DNA de satélite, íntrons e pseudogenes (BENNETT; LEITCH, 2005; BENNETZEN, 2005; GROVER; WENDEL, 2010; GURUSHIDZE; FUCHS; BLATTNER, 2012; HAWKINS et al., 2008; KALENDAR et al., 2000; KELLY et al., 2015; LEITCH; BENNETT, 1997; PELLICER et al., 2017; SOLTIS; SOLTIS, 2000). Dois tipos principais de DNAs repetitivos são distinguidos, repetições em tandem e repetições dispersas. As repetições em tandem abrangem DNA satélite, microsatélites e DNAs ribossômicos 5S e 35S (sequências espaçadoras intergênicas do rDNA). As repetições dispersas são representadas principalmente por elementos genéticos móveis, também conhecidos como elementos transponíveis (TEs). Estes são divididos em

várias categorias distintas, os transposons de DNA (transposição mediada por DNA), *Helitrons* (transposição mediada por replicação em círculo rolante) e retroelementos (retrotransposição mediada por RNA). Os retroelementos são ainda divididos em retrotransposons LTR (repetições terminais longas) e não LTR (LINEs e SINEs). As repetições são extremamente variáveis, tanto em abundância quanto em tamanho de sequência, ocorrendo em até milhões de cópias por genoma e variando em tamanho de alguns pares de bases a milhares (revisado por WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2015). Nas plantas, as superfamílias de retrotransposons Ty3/Gypsy e Ty1/Copia são geralmente os elementos repetitivos mais abundantes, embora a dominância de um tipo ou outro seja variável entre os taxa (MACAS et al., 2015; NOVÁK et al., 2014; RENNY-BYFIELD et al., 2013).

Já os mecanismos responsáveis pela diminuição do tamanho do genoma incluem a perda de cromossomos inteiros, recombinação ilegítima e cruzamento desigual entre homólogos (FEDOROFF, 2012), excisão mediada por elementos transponíveis e perda de DNA durante o reparo de quebras da fita dupla (*slipped strand mispairing*) (BENNETT; LEITCH, 2005; VU et al., 2015).

Contudo, na sinergia de expansão e contração dos genomas, também estariam envolvidos tanto mecanismos epigenéticos de silenciamento da proliferação de elementos transponíveis, sendo previsivelmente mais eficientes em espécies de genomas pequenos (KELLY; LEITCH, 2011), quanto mecanismos epigenéticos de controle da heterocromatinização após a amplificação de TEs, sendo mais eficientes em espécies com genomas gigantes, como *Fritillaria* .(KELLY et al., 2015)

2.2.3 Consequências da variação no tamanho genômico

A variação no conteúdo de DNA tem sido alvo de diversas interpretações ao longo dos anos. Recentemente, o tamanho do genoma tem sido cada vez mais estudado sob uma perspectiva evolutiva relacionando o tamanho genômico a diversos caracteres fenotípicos, sugerindo uma função adaptativa (BILINSKI et al., 2018; DU et al., 2017; DUŠKOVÁ et al., 2010; YOTOKO et al., 2011).

Nesse sentido, foi descrito que o tamanho do genoma aumenta com o tamanho da célula e a duração da divisão celular (revisado por LEITCH; BENNETT, 2007), bem como correlações entre tamanho do genoma e outros caracteres fenotípicos, como massa de sementes, massa foliar por unidade de área, taxa de crescimento e / ou taxa fotossintética (KNIGHT; BEAULIEU, 2008).

Relações entre tamanho do genoma e temperatura, disponibilidade de água, latitude e altitude dos habitats foram relatadas para diversos grupos vegetais, demonstrando correlações positivas ou negativas, ou até mesmo ausência de correlação dependendo do grupo estudado. Nesse sentido, alguns padrões podem ser observados já que espécies com pequenos tamanhos genômicos tendem a predominar em todos os ambientes. No entanto, espécies com grandes valores tendem a ocorrer em valores intermediários ao longo de gradientes de temperatura máxima e/ou altitude, declinando em frequência em direção aos dois extremos dos gradientes, com a diminuição da precipitação anual e em direção a latitudes mais baixas (revisado por KNIGHT; ACKERLY, 2002; SOUZA et al., 2019).

Neste contexto, o tamanho do genoma também pode ter consequências significativas no nível ecológico, restringindo a gama de condições ambientais toleráveis nas quais as linhagens com os genomas maiores podem sobreviver (“hipótese de restrição do genoma grande”, KNIGHT et al., 2005), como relatado em Asteraceae (DUŠKOVÁ et al., 2010), e em orquídeas (TRÁVNÍČEK et al., 2019), sugerindo que a variação no conteúdo de DNA tem um valor adaptativo.

No milho, Bilinski et al. (2018) observaram que a variação do tamanho do genoma se correlaciona negativamente com a taxa de divisão celular, de forma que indivíduos com genomas maiores precisam de mais tempo para completar um ciclo mitótico. Os autores também mostraram que a divisão celular mais rápida se correlaciona com a floração precoce através de gradientes de altitude e sugerem um modelo em que a variação no tamanho do genoma é determinada pela seleção natural sobre o tempo de floração, relacionando a variação intraespecífica no tamanho do genoma a um importante fenótipo adaptativo.

Enquanto os estudos acima mencionados ressaltam a importância adaptativa da variação do tamanho do genoma, outros argumentam que a fixação do tamanho do genoma é resultado de processos estocásticos neutros como a deriva genética (GURUSHIDZE; FUCHS; BLATTNER, 2012).

2.3 TAMANHO GENÔMICO E FILOGENIA

A disponibilidade de filogenias e dados de valor C para muitos grupos de plantas, como por exemplo, o banco de dados de conteúdo de DNA de plantas do *Royal Botanic Garden Kew*, Londres (LEITCH et al., 2019) tem permitido estudar a evolução do tamanho do genoma em angiospermas dentro de um contexto filogenético. Alguns estudos deste tipo tem sido realizados com grupos de plantas de altos níveis taxonômicos, por exemplo cobrindo

as angiospermas como um todo (LEITCH; CHASE; BENNETT, 1998; SOLTIS et al., 2003) ou mesmo no grande grupo das embriófitas (LEITCH et al., 2005). No entanto, são relativamente poucos os estudos que abordam análises para níveis taxonômicos menores, como família ou gênero, como por exemplo no gênero *Lillium* (DU et al., 2017) e na família Liliaceae (LEITCH et al., 2007), em *Passiflora* (YOTOKO et al., 2011, p. 20), *Allium* (GURUSHIDZE; FUCHS; BLATTNER, 2012), e no grupo Caesalpinia (SOUZA et al., 2019), onde o tamanho genômico apresentou um sinal filogenético alto, sugerindo que permaneceu conservado entre espécies mais próximas.

Assim, como proposto por Hawkins et al. (2006), para compreender plenamente os processos e padrões inerentes à variação do tamanho do genoma e sua evolução é necessário abordar a análise da variação sobretudo em níveis taxonômicos menores, isto é, entre espécies intimamente relacionadas dentro de um único gênero ou grupo monofilético.

2.3.1 Métodos comparativos filogenéticos

O método comparativo é uma abordagem analítica baseada na comparação de diferentes elementos, a fim de elucidar os mecanismos e processos que agiram na origem de sua diversidade. A partir disto, pode-se definir o método comparativo filogenético (PCM, do inglês *phylogenetic comparative methods*) como o estudo analítico de populações de espécies e indivíduos em um contexto histórico de modo a esclarecer os mecanismos que causam a diversidade. Desta forma, os PCMs usam informações sobre as relações históricas de linhagens (filogenia) para testar hipóteses evolutivas (PARADIS, 2014; PENNELL; HARMON, 2013).

Essas filogenias são representadas em forma gráfica como árvores, mostrando as relações evolutivas (ancestral-descendente) entre várias espécies ou outras entidades que possam ter um ancestral comum. Em uma árvore filogenética, cada nó com descendentes representa o mais recente antepassado comum hipotético, e os comprimentos dos ramos podem representar estimativas do tempo evolutivo, número de gerações ou mudanças ao longo do tempo (O'MEARA et al., 2016). A árvore filogenética reflete o tempo de divergência entre espécies no tamanho dos ramos, e isso permite reconstruir ou traçar correlações entre caracteres ao longo da evolução de um grupo assumindo a evolução dos caracteres como aleatória ao longo do tempo (movimento Browniano, FELSENSTEIN, 1985).

Porém, dado que as linhagens estreitamente relacionadas compartilham muitas características e combinações de características como resultado do processo de descendência

com modificação, as espécies relacionadas são muitas vezes estatisticamente não-independentes devido à essa ancestralidade comum (FELSENSTEIN, 1985; HARVEY; PAGEL, 1991). Isso ocorre porque a história compartilhada leva à semelhança fenotípica entre espécies relacionadas sob muitos processos evolutivos (HANSEN; MARTINS, 1996). Para contornar essa situação, através do uso dos PCMs é possível considerar a “não-independência” entre as histórias evolutivas na busca da compreensão sobre a evolução e diversificação das espécies (PENNEL; HARMON, 2013). Métodos comparativos filogenéticos têm um lugar importante na biologia evolutiva e representam uma ferramenta confiável para o estudo da evolução cariotípica e para testar a importância relativa de eventos na diversificação em plantas (CLARKSON; DODSWORTH; CHASE, 2017; COSTA et al., 2017; MARINHO et al., 2014; RIBEIRO et al., 2018; SADER et al., 2019).

A relevância da filogenia na variação do tamanho do genoma tem sido relatada em diversos estudos (DU et al., 2017; DUŠKOVÁ et al., 2010; SOUZA et al., 2019; YOTOKO et al., 2011). O papel de outros fatores na diversificação do tamanho do genoma, como por exemplo, condições ambientais, pode ser superestimado quando a filogenia é desconsiderada. Portanto, ao pesquisar as causas da variação no tamanho do genoma, tanto os componentes adaptativos quanto os não adaptativos precisam ser considerados (GURUSHIDZE; FUCHS; BLATTNER, 2012).

2.3.2 Sinal filogenético do tamanho genômico

Espécies intimamente relacionadas tendem a exibir semelhanças em uma série de caracteres morfológicos, de história de vida e ecológicos, pelo simples fato de tê-los herdado de seus ancestrais comuns (HARVEY; PAGEL, 1991; KAMILAR; COOPER, 2013; REVELL; HARMON; COLLAR, 2008). Dada a grande variação no GS observada dentro e entre diferentes níveis taxonômicos, tornou-se obrigatório analisar a distribuição dessa variação em um contexto filogenético (DU et al., 2017; HAWKINS et al., 2006). Vários estudos demonstraram uma alta dependência filogenética, ou sinal filogenético, da distribuição dessa característica (DU et al., 2017; SOUZA et al., 2019) e destacaram que a escala é essencial para a análise em diferentes níveis taxonômicos dentro da mesma família ou grupo (DUŠKOVÁ et al., 2010). Os caracteres, ou traços, das espécies podem mostrar sinal filogenético alto ou baixo; onde o sinal filogenético é alto, espécies estreitamente relacionadas exibem valores semelhantes e a similaridade diminui à medida que a distância filogenética aumenta. Por outro lado, uma característica que exibe um sinal filogenético fraco pode variar

aleatoriamente através de uma filogenia ou mostrar vários casos em que espécies relacionadas à distância convergem para um valor semelhante, enquanto espécies estreitamente relacionadas exibem valores de característica notavelmente diferentes (KAMILAR; COOPER, 2013). Nesse sentido, o sinal filogenético pode ser definido como a tendência de as espécies relacionadas se assemelharem, mais do que se assemelham a espécies escolhidas aleatoriamente a partir de uma mesma árvore filogenética (BLOMBERG; GARLAND; IVES, 2003).

O sinal filogenético é uma medida da dependência estatística entre os valores das características das espécies devido às suas relações filogenéticas (REVELL; HARMON; COLLAR, 2008) e pode ser avaliado usando diferentes enfoques. Quanto à análise em relação ao tamanho do genoma (caráter de natureza contínua), pode-se utilizar o λ de Pagel, no qual o modelo de evolução de caracteres é baseado no modelo de movimento Browniano ou de variância constante (FELSENSTEIN, 1985; REVELL; HARMON; COLLAR, 2008), que assume que um caractere evolui aleatoriamente ao longo do tempo.

A análise da distribuição dos tamanhos dos genomas em diferentes níveis taxonômicos tem mostrado que há um forte sinal filogenético para esse caráter, possibilitando a compreensão dos padrões de evolução do genoma em relação aos fatores responsáveis por sua variação (DU et al., 2017). Vários trabalhos têm mostrado forte sinal filogenético do tamanho do genoma em hierarquias taxonômicas altas (BAINARD et al., 2012; DU et al., 2017; KAMILAR; COOPER, 2013). No entanto, apenas alguns estudos quantificaram o sinal filogenético para tamanho do genoma ao nível de gênero (COSTA et al., 2017; FLEISCHMANN et al., 2014; SOUZA et al., 2019).

2.4 GRADIENTES LATITUDINAIS E TAMANHO DO GENOMA

Diferentes análises têm mostrado que o tamanho do genoma pode estar correlacionado com características ecologicamente ou citologicamente variáveis, incluindo tamanho dos cromossomos, padrões de heterocromatina, presença de cromossomos B, poliploidia, variáveis climáticas como latitude, altitude, temperatura, precipitação, etc. (KANG et al., 2014; LYU et al., 2018; TRIVERS; BURT; PALESTIS, 2004; VAN-LUME et al., 2017; WENG et al., 2012); e traços fenotípicos e de história de vida (DU et al., 2017; GROTKOPP et al., 2004; HULTGREN et al., 2018; KNIGHT; BEAULIEU, 2008; SOUZA et al., 2019; TRÁVNÍČEK et al., 2019).

A latitude se destaca como um dos principais fatores que foram investigados extensivamente para explorar a relação entre características citológicas (por exemplo, tamanho do genoma) e o ambiente. Uma das primeiras observações feitas em relação a isso aparece no trabalho de Avdulow (1931), que mostrou que gramíneas de regiões tropicais tinham cromossomos menores em comparação às gramíneas de regiões temperadas mais frias, sugerindo uma correlação entre tamanho cromossômico (e, portanto, conteúdo de DNA, quando o número de cromossomos é mantido) e latitude.

Stebbins (1966) observou que os gêneros tropicais de Leguminosae e alguns gêneros de monocotiledóneas principalmente tropicais e subtropicais apresentam cromossomos menores em comparação com gêneros de regiões temperadas. Levin and Funderburg (1979) compararam 892 espécies de angiospermas de 218 gêneros e 38 famílias e mostraram que o comprimento médio e total dos cromossomos por genoma diploide (que está correlacionado com tamanho do genoma) foi significativamente menor em espécies tropicais do que em temperadas. Knight e Ackerly (2002) encontraram uma relação positiva entre o tamanho do genoma e a latitude, e com variáveis de precipitação, em um amplo estudo envolvendo vários grupos de angiospermas que se concordaram com esses resultados. Ao longo dos anos, diversos estudos relataram correlações que sustentam as descobertas de Levin e Funderberg (BASAK et al., 2019; BOTTINI et al., 2000; DÍEZ et al., 2013; KANG et al., 2014, 2014; KNIGHT; BEAULIEU, 2008; MÜLLER; ZOTZ; ALBACH, 2019; SOUZA; CROSA; GUERRA, 2015; VESELÝ et al., 2012). Porém, outros estudos também mostraram correlações negativas entre latitude e conteúdo de DNA nuclear em plantas como em *Pinus* (GROTKOPP et al., 2004), *Zea* (RAYBURN; AUGER, 1990), *Festuca* (CECCARELLI; FALISTOCCO; CIONINI, 1992) e *Arabidopsis* (SCHMUTHS et al., 2004), e em outros grupos de plantas (JAKOB; MEISTER; BLATTNER, 2004; MRÁZ; CHRTEK; ŠINGLIAROVÁ, 2009; WANG; KERSTETTER; MICHAEL, 2011), ou mesmo inexistência de correlação (VÍT et al., 2016).

Análises mais recentes, que envolvem variação no conteúdo de DNA através de um gradiente latitudinal e dentro de um contexto filogenético, revelam uma correlação positiva entre tamanho genômico e latitude, e mesmo com outros fatores ambientais (como temperatura) em grupos fortemente ligados a um determinado tipo de habitat, como ocorre no grupo *Caesalpinia* (SOUZA et al., 2019).

Nesse sentido, a família Cactaceae é um excelente modelo para investigar a relação entre o conteúdo de DNA e variáveis ambientais, uma vez que possui estabilidade no número cromossômico básico ($x=11$) (CASTRO et al., 2016; GUERRA, 2008), alta especificidade no

tipo de habitat (ANDERSON, 2001; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014), ampla distribuição e elevada variabilidade ecológica e de conteúdo de DNA (ARAKAKI et al., 2011; NEGRON-ORTIZ, 2007).

2.5 CACTACEAE

2.5.1 Biologia das cactáceas

Cactaceae é uma família com distribuição exclusivamente neotropical, principalmente nas regiões quentes e secas, por exemplo em florestas tropicais sazonalmente secas—bioma das suculentas (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014) com exceção de *Rhipsalis baccifera* (J.S.Muell.) Stearn que também ocorre no continente Africano (JUDD et al., 2015).

A maioria das espécies de cactos habitam locais epifíticos, rupícolas, saxícolas ou geófitos em regiões semiáridas, porém outras alcançam áreas áridas de precipitação não mensurável onde sobrevivem como geófitos, como no deserto do Atacama, Chile, ou ambientes de dunas relativamente secos, até florestas tropicais adaptadas à micro-hábitats epífitos sob condições de 2.000 mm de precipitação anual (BARTHLOTT; HUNT, 1993). O caule é suculento e o hábito varia desde globoso ou cilíndrico nas espécies solitárias, até a formação de moitas cespitosas, decumbentes, escandentes, eretas e prostadas (BARTHLOTT; HUNT, 1993). As folhas têm se-desenvolvido em espinhos agrupados em aréolas, porém o gênero *Pereskia* ainda possui folhas laminares normais além de espinhos. As espécies de cactos apresentam atributos fisiológicos como o metabolismo ácido das crassuláceas (especialização fotossintética tipo CAM), que possibilitou maior eficiência sobre o uso da água armazenada, e morfológicos como a suculência da parte vegetativa ou cladódio, usando-o de estoque de água para sobreviver aos períodos de seca (LÜTTGE, 2004; MAUSETH, 2006). Esses atributos conferiram potencial adaptativo para a ocupação de ambientes preferencialmente xéricos (ARAKAKI et al., 2011).

2.5.2 Centros de origem e distribuição geográfica

A família Cactaceae compreende mais de 1.450 espécies de cactos classificadas em ca. 127 gêneros (HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006). A maioria das espécies está concentrada no México com centros secundários na região do sudoeste andino e no Brasil oriental (HERNANDEZ-HERNANDEZ et al., 2011). No Brasil são conhecidos aproximadamente 37 gêneros e 233 espécies da família

Cactaceae. No Nordeste do Brasil a família se destaca como um dos grupos de angiospermas predominantes da região semi-árida, sendo conhecido para a região um total de 25 gêneros e 98 espécies (ZAPPI et al., 2015). A família é monofilética e inclui quatro subfamílias: Cactoideae, Opuntioideae, Maihuenioideae e Pereskioideae (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006; MAUSETH, 2006; NYFFELER, 2002). Essas duas últimas famílias ainda têm relações filogenéticas incertas, sendo a primeira linhagem que divergiu da família.

Acredita-se que a origem da família Cactaceae ocorreu durante a fragmentação do supercontinente de Gondwana, iniciada pela ação tectônica no final do Cretáceo (~90–65 Ma—milhões de anos atrás), uma vez que o atual continente sul-americano se afastou o suficiente do africano impedindo assim a dispersão de organismos entre eles e favorecendo a especiação (ANDERSON, 2001). Mais recentemente a idade da família tem sido determinada em aproximadamente 35 Ma, (Cenozoico médio) com origem na América do Sul na região Andina da Argentina, Bolívia e Peru (ARAKAKI et al., 2011; EDWARDS; NYFFELER; DONOGHUE, 2005; HERSHKOVITZ; ZIMMER, 1997; NYFFELER, 2007). Porém, a maioria da diversidade atual deste grupo foi gerada em eventos recentes de significativa diversificação no Mioceno tardio (10–5Ma) e Plioceno (5–2 Ma) (ARAKAKI et al., 2011), coincidindo com o desenvolvimento e expansão dos principais núcleos áridos reconhecidos atualmente no Neotrópico (p.e., deserto de Sonora, Gran Chaco, Semi-árido no leste do Brasil) e da América do Sul, estes últimos com forte influência da elevação dos Andes (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014). O declínio acentuado do CO₂ (gás carbônico) atmosférico que marcou estes períodos (TRIPATI; ROBERTS; EAGLE, 2009) pode ter proporcionado uma forte vantagem competitiva para espécies com sistema fotossintético tipo CAM (metabolismo ácido das crassuláceas) e propiciado uma rápida diversificação de linhagens nos novos ambientes em formação (ARAKAKI et al., 2011; LÜTTGE, 2004).

Três grandes centros de diversidade e endemismos foram propostos para as cactáceas: o primeiro compreende o México e sudoeste dos Estados Unidos (BARTHLOTT; HUNT, 1993; HERSHKOVITZ; ZIMMER, 1997), seguido pela porção central dos Andes na América do Sul e a região leste do Brasil (HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006; TAYLOR; ZAPPI, 2004).

2.5.3 Gêneros estudados

Os gêneros estudados nesse trabalho apresentam uma distribuição bastante extensa no domínio Neotropical (MORRONE, 2011). A subfamília Opuntioideae é monofilética, e

distribuída do Canadá a Patagônia (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006). Dentro da subfamília, *Opuntia* (*nopales*, peras espinhosas) é o maior gênero em Opuntioideae e o mais amplamente distribuído (ANDERSON, 2001). Existem 180 espécies reconhecidas dentro do gênero (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006), originado recentemente ~ 5,6 Ma (ARAKAKI et al., 2011), com a mais ampla distribuição nas regiões áridas do continente americano desde o norte dos Estados Unidos até a Patagônia (ANDERSON, 2001; MAJURE et al., 2012). Algumas espécies são usadas em todo o mundo como culturas de frutas e legumes e como forragens em regiões áridas, como partes do Brasil, México, Ásia Ocidental e Norte e África do Sul (NOBEL, 2002).

Pereskioideae é uma subfamília com posição basal em Cactaceae (BUTTERWORTH; WALLACE, 2005; EDWARDS; NYFFELER; DONOGHUE, 2005). Seu único gênero *Pereskia* consiste em 17 espécies de plantas tipicamente arbóreas ou arbustivas, às vezes escandentes, com caules não suculentos e folhas laminares bem desenvolvidas, decíduas no período seco (ESTRADA-CASTILLO et al., 2019), que compartilham características morfológicas plesiomórficas dentro de cactos (EDWARDS; DONOGHUE, 2006). As espécies de *Pereskia* ocorrem principalmente das planícies neotropicais do sul do México, incluindo algumas ilhas do Caribe, ao norte da Argentina e Uruguai ocupando muitas áreas de floresta tropical sazonalmente seca (bioma das suculentas) (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014; LEUENBERGER, 1986). No entanto, diferentemente de outros membros da família Cactaceae, não sobrevivem ao estresse hídrico (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006).

Cactoideae contém o maior número de gêneros e espécies e a maior diversidade de formas e hábitos de crescimento entre as subfamílias de Cactaceae (ANDERSON, 2001; BARTHLOTT; HUNT, 1993). Sua diversidade de adaptações a diferentes ambientes permite encontrar desde cactos colunares e arborescentes em florestas tropicais secas, a epífitas com hastes cilíndricas ou achatadas em florestas tropicais úmidas da América Central e do Sul e uma variedade de formas globosas, independentes e cespitosas, nas regiões áridas e semiáridas da América (HERNANDEZ-HERNANDEZ et al., 2011).

A subfamília Cactoideae tem sido recuperada fortemente suportada como monofilética nas filogenias moleculares (NYFFELER, 2002, 2007). No entanto, exceto para Cactaceae, estudos recentes conflitam com classificações morfológicas enquanto tribos tradicionalmente definidas foram recuperadas para- ou polifiléticas (APPLEQUIST; WALLACE, 2002;

NYFFELER, 2002). Dentro da subfamília, *Hylocereus* compreende 18 espécies de plantas de floração noturna, trepadeiras ou epifíticas, distribuídas naturalmente na América tropical (sul do México, Caribe, América Central e norte da América do Sul) (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006).

Mammillaria (Cactoideae) é o maior gênero de Cactaceae, o mais difundido e de maior riqueza em espécies em Cactoideae. Inclui 200 espécies naturalmente distribuídas na América (sudoeste dos Estados Unidos, México, América Central, Caribe e norte da América do Sul) (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006). Tipicamente, eles ocorrem nos desertos ou em afloramentos rochosos nas florestas tropicais e subtropicais.

Melocactus (Cactoideae) abriga 37 espécies amplamente distribuídas na América, do oeste do México à América Central, ao Equador e ao sul do Peru, do Caribe à Venezuela e leste do Brasil (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006), ocorrendo em vários tipos de vegetação, como florestas secas, campos rochosos, floresta semidecídua e decídua, vegetação em solo arenoso e dunas costeiras e vegetação em afloramentos rochosos (ZAPPI et al., 2015).

2.5.4 Números cromossômicos

Os números cromossômicos apresentam-se relativamente estáveis para toda a família Cactaceae, com número básico de $x = 11$, e diferentes níveis de ploidia. No gênero *Opuntia* o número cromossômico varia de $2n = 22$ em diploides, $2n = 44$ em tetraploides, $2n = 66$ em hexaploides, $2n = 88$ em octaploides até com até $2n = 110$ em *Opuntia cylindrica* (MAJURE et al., 2012; PALOMINO et al., 2016; SEGURA et al., 2007). O número cromossômico para *Pereskia* é $2n = 22$ (LEUENBERGER, 1986; LOMBELLO; FORNI-MARTINS, 1998). Nos gêneros *Melocactus*, *Hylocereus* e varia de $2n = 22$ em diploides a $2n = 44$ em tetraploides. Em *Mammillaria* há ainda hexaploides com $2n = 66$ até *Mammillaria capensis* que apresenta $2n = 264$ (ASSIS et al., 2003; CASTRO et al., 2013; DAS; MOHANTY; DAS, 1998).

2.5.5 Conteúdo de DNA nuclear

A família Cactaceae tem sido um interessante modelo ecológico útil para investigar a diversificação de linhagens vegetais em regiões áridas e semi-áridas da América do Norte e do Sul (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014), porém poucos estudos abordam a análise

do tamanho do genoma nesse grupo (DEL ANGEL et al., 2006; LAS PEÑAS et al., 2014; NEGRON-ORTIZ, 2007; PALOMINO et al., 2016). As primeiras estimativas do conteúdo de DNA nuclear em Cactaceae foram feitas usando a técnica de densitometria de células coradas com Feulgen (GREILHUBER, 2008) no gênero *Mammillaria* (DAS; MOHANTY; DAS, 1997) e no gênero *Melocactus* (DAS; MOHANTY; DAS, 1998, 1998). Com o advento da citometria de fluxo, tamanho do genoma de espécies das subfamílias Pereskioideae, Opuntioideae e Cactoideae (BAUK et al., 2016; DEL ANGEL et al., 2006; LAS PEÑAS et al., 2014; LAS PEÑAS; KIESLING; BERNARDELLO, 2019; NEGRON-ORTIZ, 2007; NODAL-MORENO et al., 2019; PALOMINO et al., 2016; SEGURA et al., 2007; TEL-ZUR et al., 2011; ZONNEVELD; LEITCH; BENNETT, 2005) foram estimados. No entanto, estudos envolveram principalmente a análise da variação interespecífica do conteúdo de DNA em relação a caracteres cariotípicos (como número e tamanho cromossômico) ou caracteres associados a invasividade (SILVA, 2015), mas sem um contexto filogenético ou biogeográfico. A ampla distribuição ecológica e geográfica de Cactaceae nos biomas suculentos, sua grande variabilidade morfológica e de hábitos, juntamente com a pouca atenção dada ao estudo do conteúdo de DNA desse grupo, representam uma oportunidade para o estudo contínuo do tamanho de genoma e sua variação em relação ao meio ambiente dentro de um quadro evolutivo.

3 RESULTADOS

3.1 ARTIGO: SHIFTS IN ECOLOGICAL VARIABLES DRIVE GENOME SIZE DIVERSITY ACROSS LATITUDINAL GRADIENTS IN CACTACEAE?

Artigo científico intitulado “*Shifts in ecological variables drive genome size diversity across latitudinal gradients in Cactaceae?* ”, a submeter na revista “*Genetics and Molecular Biology*”, (anteriormente nomeada Revista Brasileira de Genética/Brazilian Journal of Genetics - ISSN 0100-8455), publicada pela Sociedade Brasileira de Genética (*Brazilian Society of Genetics*); endereço eletrônico <https://www.gmb.org.br/>

ARTIGO: SHIFTS IN ECOLOGICAL VARIABLES DRIVE GENOME SIZE DIVERSITY
ACROSS LATITUDINAL GRADIENTS IN CACTACEAE?

Pablo E. Rodriguez¹, Erton Almeida¹, Bruno S. Amorim², Lucas Costa¹, Gustavo Souza¹

¹Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

² Museu da Amazônia, MUSA, 69099-415 Manaus, Amazonas, Brazil

Correspondence author:

lgrsouza@hotmail.com

Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Biociências, Departamento de Botânica

Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal

R. Prof. Moraes Rego, s/n, CDU. 50670-901 Recife PE Brazil

Tel: + 55 81 2126 8846 or 8352; Fax: + 55 81 2126 8348

Rodriguez P. E. <https://orcid.org/0000-0003-0260-3385>

Almeida, E. <https://orcid.org/0000-0001-8033-5334>

Amorim, B. <https://orcid.org/0000-0002-8109-9254>

Costa L. <https://orcid.org/0000-0001-7147-3786>

Souza G. <https://orcid.org/0000-0002-5700-6097>

ABSTRACT

Genome size (GS) displays a broad variation across land plants. Although it is known to be influenced by selection pressures depending on different environmental conditions and life-history strategies, causes of GS variation across lineages remain elusive. Latitude gradients of GS tend to show contrasting patterns depending on group of plants analysed, sampling and statistical approaches, suggesting a differential impact of environmental variables on the diversification of DNA content. In this work, we test how GS of dry-climate specialized family Cactaceae correlates with environmental traits. We used flow cytometry to generate original GS data for *Melocactus* and *Pereskia* species, in addition to a compilation of previously published data from *Hylocereus*, *Mammillaria* and *Opuntia*. To account for phylogenetic relationships, correlation tests with environmental variables were performed by Phylogenetic Comparative Methods (PCMs). In our total sample, 2C-values varied 3.42-fold, from $2C = 1.85$ pg in *Pereskia aculeata* to $2C = 8.23$ pg in *Opuntia tomentosa*. Of the analysed genera, we found a significant correlation only for the genera *Hylocereus* and *Mammillaria*. In *Mammillaria*, both PIC and Pearson correlation analysis showed that precipitation is an important factor influencing GS variation. Contrastingly, *Hylocereus* patterns suggested that species with smaller genomes prevail in areas where rain is highly variable and seasonal, while larger genomes depend on higher constant annual precipitation. Although it may imply that *Hylocereus* inhabits a challenging wet environment for cacti (biome shift) favouring genome expansion, the evolution of larger GS may be more permissible in habitats with longer growing seasons where selection for faster growth may be relaxed. Our data showed that the GS variability in Cactaceae genera appears to be correlated with shifts in ecological variables.

Keywords: 2C value. Climate variables. Genome evolution. Succulent Biome. Biome shift.

INTRODUCTION

Genome size (GS) is defined as the amount of DNA a cell nucleus contains (PELLICER et al., 2018). Although it is constant within the same species, it varies extremely through all the different organisms (GREILHUBER et al., 2005; SWIFT, 1950). Estimates are referred to as the C-value, where the DNA amount carried by the unreplicated chromosome complement of haploid gamete corresponds to 1C-value, and the amount of DNA of the most common type of somatic (diploid) cell is referred as 2C-value. The (averaged) DNA content of the non-replicated monoploid genome ('basic DNA content') in polyploids and non-polyploids is called 'Cx-value', where the degree of generative polyploidy (indicated by the letter 'x') determines, for example, the mean 1Cx value of a tetraploid sporophyte ($2n = 4x$) with a certain 2C-value, as a quarter of the 2C value. Hence, in generatively non-polyploid organisms C-value and Cx-value are congruent (GREILHUBER et al., 2005).

GS is a trait of biological importance and has been widely used in several areas of cell and molecular biology, systematics, genome and species evolution, plant breeding, physiology and development (BENNETT; BHANDOL; LEITCH, 2000; DÍEZ et al., 2013; PUTTICK; CLARK; DONOGHUE, 2015; SADER et al., 2019). Plants are especially important in GS studies, since they have the widest range in DNA content among the eukaryotes (PELLICER et al., 2018). Although most angiosperms have small genomes (median of 5.14; Leitch et al., 2019), the observed range is from 1C = 0.07 pg in *Genlisea tuberosa* Rivadavia, Gonella & A.Fleischm (Lentibulariaceae) up to the gigantic genome of 1C = 152.20 pg of *Paris japonica* (Franch. & Sav.) Franch (Melanthiaceae) (PELLICER et al., 2018). A variation is observable from large taxonomic levels to intra-generic levels or between geographically separated populations of the same species (JAKOB; MEISTER; BLATTNER, 2004; KELLY et al., 2015; SCHMUTHS et al., 2004; ŠMARDA; BUREŠ, 2006). This GS variation is mainly due to polyploidization and transposable elements (TE) proliferation and/or elimination. Several studies in plants report TE activation and overexpression in response to biotic or environmental stress conditions such as fungal attack and temperature, etc. (CASACUBERTA; GONZÁLEZ, 2013; CHÉNAIS et al., 2012).

The biological significance of GS plasticity still puzzles evolutionary scientists. Recently, genome size has been increasingly addressed from an evolutionary perspective. Several correlations between GS and phenotype, such as cytological, morphological, and physiological traits (e.g., cell size, cell cycle duration, chromosome size, metabolic rates) have been reported (GROTKOPP et al., 2004; KNIGHT; BEAULIEU, 2008; SIMONIN;

RODDY, 2018). As these traits affect the interaction of plants with the environment, these findings point to a number of possible ecological roles of the variation in GS.

Studies addressing variation in DNA content across environmental gradients showed conflicting results regarding their positive, negative or non-correlation between GS and ecological variables. Latitude has been serving as a proxy to ecological variability in GS studies with a number of taxa presenting strong correlations between latitude and GS. However, they involved mostly groups of plants from temperate regions and with restricted geographical range (BASAK et al., 2019; BENNETT; SMITH; SMITH, 1982; DU et al., 2017; JAKOB; MEISTER; BLATTNER, 2004; REEVES et al., 1998; WANG et al., 2019; WANG; KERSTETTER; MICHAEL, 2011). In this sense, the analysis of the GS evolution of groups with wide geographic distribution encompassing a wide ecological range, such as the *Caesalpinia* group (SOUZA et al., 2019), Bromeliaceae family (MÜLLER; ZOTZ; ALBACH, 2019) and maize (BILINSKI et al., 2018), is still necessary for a more complete understanding of the dynamics between the genome and the environment.

Closely related species tend to exhibit similarities in a series of morphological, life-history, and ecological characters simply because they inherited them from their common ancestors (HARVEY; PAGEL, 1991). Given the large variation in GS observed within and between different taxonomic levels, it has become common to analyse the distribution of that variation in a phylogenetic context (DU et al., 2017; HAWKINS et al., 2006). Several studies have demonstrated a high phylogenetic dependence on the distribution of this trait (DU et al., 2017; SOUZA et al., 2019) and have highlighted that scale is essential when analysing the phylogenetic signal in different taxonomic levels within the same family or group (DUŠKOVÁ et al., 2010). Therefore, to fully explore the relationship between environmental factors and GS, taxonomic sampling needs to be supported by a robust phylogenetic hypothesis.

An example of a group of plants that presents a wide geographical distribution among the neotropics and a great variation of forms of growth and adaptations to a specific environment are cacti (ANDERSON, 2001). Cactaceae is a family of succulent perennial plants of moderate age that seem to have originated in South America ~35 Mya (Middle Cenozoic) (ARAKAKI et al., 2011; EDWARDS; NYFFELER; DONOGHUE, 2005; HERSHKOVITZ; ZIMMER, 1997; NYFFELER, 2007). However, most of its current diversity is a result of recent events of significant diversification throughout the mid to late Miocene and into the Pliocene (ARAKAKI et al., 2011). Cacti are mostly Neotropical [except

Rhipsalis baccifera (J.S.Muell.) Stearn, in Africa] occurring mainly in warm and dry regions (e.g. in succulent biomes) (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014; JUDD et al., 2015).

Most cactus species inhabit semi-arid locations, though occupy from relatively dry dune environments to tropical forests adapted to epiphyte microhabitats under conditions of 2,000 mm of annual precipitation. However, some species reach arid areas of unmeasurable rainfall where they survive as geophytes, like in the Atacama Desert on Chile (BARTHLOTT; HUNT, 1993). Adapted to preferentially xeric environments (ARAKAKI et al., 2011), they share special adaptations such as succulence of the vegetative portion of the body or cladode for water storage, and CAM-type photosynthesis, allowing higher efficiency when using stored water (LÜTTGE, 2004; MAUSETH, 2006). Cactaceae includes over 1,450 species classified into ca. 127 genera (BARTHLOTT; HUNT, 1993; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006). The family is monophyletic and includes four subfamilies: Cactoideae, Opuntioideae, Maihuenioideae and Pereskioideae (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006; MAUSETH, 2006; NYFFELER, 2002). These last two subfamilies represent the first diverging lineages of the family and still have uncertain phylogenetic relationships. The subfamily Opuntioideae is distributed from Canada to Patagonia (ANDERSON, 2001; HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006; STUPPY, 2002). *Opuntia* (*nopales*, prickly pears) is the largest genus in Opuntioideae and the most widespread distributed (ANDERSON, 2001). Cactoideae contains the largest number of genera and species and the largest diversity of growth forms and habits among Cactaceae subfamilies (ANDERSON, 2001; BARTHLOTT; HUNT, 1993). Their diversity of adaptations to different environments allows finding of cacti in dry, tropical forests, to epiphytes with cylindrical or flattened stems in humid, tropical forests of Central and South America, and a variety of globose, both independent and caespitose, forms in arid and semiarid regions of America (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2011).

Despite being an interesting ecological object of study, useful to investigate the diversification of plant lineages in arid and semi-arid regions of North and South America (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014), the Cactaceae family is poorly studied from the GS point of view (DEL ANGEL et al., 2006; LAS PEÑAS et al., 2014; NEGRON-ORTIZ, 2007; PALOMINO et al., 2016). First estimates of nuclear DNA content in Cactaceae were made using the technique of densitometry of cells stained with Feulgen (GREILHUBER, 2008) in the genus *Mammillaria* (DAS; MOHANTY; DAS, 1997) and in the genus

Melocactus (DAS; MOHANTY; DAS, 1998a, 1998b). With the advent of flow cytometry, genome size of species of the subfamilies Pereskioideae, Opuntioideae and Cactoideae (BAUK et al., 2016; DEL ANGEL et al., 2006; LAS PEÑAS et al., 2014; LAS PEÑAS; KIESLING; BERNARDELLO, 2019; NEGRON-ORTIZ, 2007; NODAL-MORENO et al., 2019; PALOMINO et al., 2016; SEGURA et al., 2007; TEL-ZUR et al., 2011; ZONNEVELD; LEITCH; BENNETT, 2005) were estimated. However, studies mainly involved the analysis of interspecific variation of DNA content in relation to karyotypic characters (such as chromosomal number and size) or to invasiveness (SILVA, 2015), yet without a phylogenetic or biogeographic context.

In this study, we evaluated the GS diversity among species belonging to Cactaceae using flow cytometry and through comparisons made by Phylogenetic Comparative Methods (PCM) in a spatio-temporal context. To explore the relationship between ecological variables and GS variation, we chose strictly arid (*Melocactus*, *Mammillaria*, *Pereskia* and *Opuntia*) and epiphytic rainforest (*Hylocereus*) Cactaceae genera as models. Sampling comprised three of the four recognised subfamilies of Cactaceae, including species with a broad latitudinal range, allowing testing the hypothesis that GS is influenced by ecological variables. Therefore, the aims of this study were (1) to examine the range and distribution of genome size across taxa of the Cactaceae family; (2) to investigate if genome size correlates with latitudinal gradients and other environmental factors in a phylogenetic framework; (3) to discuss which evolutionary mechanisms can explain GS variability in Cactaceae.

MATERIAL AND METHODS

Plant materials

Cactaceae species of the subfamilies Cactoideae [*Hylocereus* (A. Berger) Britton & Rose, *Mammillaria* Haw. and *Melocactus* Link & Otto], Opuntioideae (*Opuntia* Mill.) and Pereskioideae (*Pereskia* Mill.), were used for the study. For genome size, original data (estimates of 2C DNA content) was generated by flow cytometry for nine species of genus *Melocactus* as well as *Pereskia bleo* (Kunth) DC. The genome size of the 56 other species were obtained from the literature (DEL ANGEL et al., 2006; LAS PEÑAS et al., 2014; NEGRON-ORTIZ, 2007; PALOMINO et al., 2016; SEGURA et al., 2007; SILVA, 2015; TEL-ZUR et al., 2011). *Melocactus* species were collected in natural populations from Northeastern Brazil and cultivated at the experimental garden of the Laboratory of Plant

Cytogenetics and Evolution of the Federal University of Pernambuco (UFPE, Recife-PE, Brazil).

Flow Cytometry Measurement

Nuclear DNA contents were estimated according to the one-step procedure described by Doležel et al. (2007). *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. 'Stupické polní tyčkové rane' (2C = 1.96 pg), *Glycine max* (L.) Merr. cv. Polanka (2C = 2.5 pg), *Hordeum vulgare* 'Ditta' (2C = 11.1 pg), and *Pisum sativum* 'Ctirad' (2C = 9.09 pg), were cultivated and used as internal standards (DOLEŽEL; BINAROVÁ; LCRETI, 1989; GALBRAITH et al., 1983; JOHNSTON et al., 1999; OBERMAYER et al., 2002). About five centimetres of fresh young root tissue, along with a proportional amount of leaf tissue from the suitable internal standard, were homogenized (chopped) with a razorblade in 1.2 ml of ice-cold "MARIE" solution buffer (MARIE; BROWN, 1993) in a glass sterile Petri dish. The resulting suspension was filtered through a 30 µm nylon mesh (Sysmex CellTrics®). Target species and internal standard were co-stained by adding 50 µl of propidium iodide solution (final concentration of 10 mg/ml; Sigma-Aldrich), rested in ice for a maximum of five minutes before analysis, and subsequently run on a Flow Cytometer CyFlow Space (PARTEC, Muster, Germany) equipped with a green laser of 488 nm. The fluorescence signal of a minimum of 1000 nuclei was measured and compared with internal standard species (DOLEŽEL; BINAROVÁ; LCRETI, 1989). Relative fluorescence histograms were acquired by the software Flomax v.2.3.0. (PARTEC). The DNA content of the target species was calculated using the equation "2C target (pg) = (G1 target/G1 standard) x 2C standard (pg)". "G1" refers to the mean fluorescence value emitted by nuclei in the G1 stage of interphase and "2C standard" refers to the DNA content from somatic cell nuclei of the reference standard used in the measurement. Two individuals were studied by species, with the average value being chosen. Different tissues of *Melocactus zehntneri* were tested (spines, roots and flowers), in order to assess alternatives to epidermis as an easier way to collect samples in the field.

Phylogenetic relationships in Cactaceae

For phylogenetically controlled analyses, we used Bayesian Inference (BI) to reveal phylogenetic relationships for each analysed genera (except for *Melocactus*, for which few sequences were available on GenBank). All sequences were obtained following Benson et al.

(2013) through the GenBank database. We sampled 55 taxa of the family Cactaceae, including the genus *Hylocereus* (8 spp.), *Mammillaria* (24 spp.), *Opuntia* (17 spp.) and *Pereskia* (6 spp.), with available DNA sequence (Supporting Information, Table S1). The species *Talinum paniculatum*, *Ceraria fruticulosa* and *Grahamia bracteata* were used as outgroup. The *atpB-rbcL*, *psbA-trnH*, *trnL-trnF* spacers, and *matk*, *phyC*, *rpl16* markers from the plastid region, and the internal transcribed spacer (ITS1 and ITS2) of ribosomal nuclear region, were used (Table S1).. DNA sequences were aligned using MUSCLE (EDGAR, 2004) as a plugin in Geneious v.7.1.9 (KEARSE et al., 2012) with subsequent manual adjustments and subsequently concatenated into a single matrix.

We used jModelTest v.2.1.6 to assess the best model of DNA substitution for each individual marker (DARRIBA et al., 2012) through the Akaike Information Criterion (AKAIKE, 1974). The best fitting models were GTR + I + G (ITS) and GTR + G (*atpB-rbcL*, *psbA-trnH*, *trnL-trnF*, *matk*, *phyC* and *rpl16*). Phylogenetic relationships were inferred using the Bayesian Inference (BI) approach implemented in MrBayes v.3.2.6. (RONQUIST et al., 2012). All analyses were performed for each region both separately and combined. Four independent runs with four Markov Chain Monte Carlo (MCMC) runs were conducted, sampling every 1,000 generations for 15,000,000 generations. Each run was evaluated in TRACER v.1.6 (RAMBAUT et al., 2014) to determine that the estimated sample size (ESS) for each relevant parameter was higher than 200 and a burn-in of 25% was applied. The majority-rule consensus tree and posterior probability (PP) were visualized and edited in FigTree v.1.4.2. (RAMBAUT, 2014). All BI and jModelTest analyses were performed in the CIPRES Science Gateway (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010).

Ecological traits and Phylogenetic comparative methods (PCM)

Information on geographical occurrences and latitudinal extent of natural populations of the species analyzed were obtained from the Global Biodiversity Information Facility (GBIF) website (<https://www.gbif.org>). Raw data was filtered and cleaned from cultivated plants occurrences and invalid records (oceanic points, unnatural occurrence locations such as botanical gardens) using the package “CoordinateCleaner 2.0-11” (ZIZKA et al., 2019) implemented in the R software v3.5.3 (R CORE TEAM, 2019). The definitive natural distribution of the species was adjusted according to the work of Hunt et al. (2006). Distribution maps were plotted using the software QGIS v. 2.18 (QGIS DEVELOPMENT

TEAM, 2014), and correlation graphs were generated by ggplot2 package v3.2.1 implemented in R.

Environmental data was retrieved from WorldClim 2.0 (2.5 min. grid) dataset using “raster 3.0-7” package implemented in R v3.5.3. Species medians for absolute latitude, altitude and 19 climatic variables were calculated. To differentiate the ecological space occupied by each genus analysed, a principal component analysis (PCA) was performed, which allowed to plot those environmental variables that explained the greatest variation of genome size. In order to avoid the selection of highly correlated variables ($r > 0.75$), correlations between these environmental variables were assessed with Pearson’s correlation coefficient, PCA and SCREE-plot (see Supplementary Information Appendix I) implemented in the R package “factoextra v1.0.6” (O’ROURKE; HATCHER; STEPANSKI, 2005).

Genome size, latitudinal and environmental data were $\log_{10}$ -transformed for all analyses. Correlations were performed using both raw species means and phylogenetic independent contrasts (PICs; Felsenstein 1985), as we were able to include only four of the five genera in phylogenetically controlled analyses. For each genus, we first tested for correlations between genome size and latitudinal midpoint (our primary variable of interest) using package “ggpubr v 0.2.4” for raw correlations (Pearson’s correlation coefficient), and the package “ape 5.3 v3.5.3” implemented in R (R CORE TEAM, 2019) for PICs (PARADIS, 2012; PARADIS et al., 2017).

Ancestral character state reconstruction of 2C-values (pg) across the phylogenetic trees of each genus was performed using Mesquite v.3.40 (MADDISON; MADDISON, 2018).

RESULTS

Flow cytometric estimates and nuclear DNA content in Cactaceae

Tests of different *Melocactus* tissue used for flow cytometry showed that young spines, petals and epidermis revealed poor quality and difficult to interpret results. Spines histograms showed a weak diploid peak but a strong tetraploid peak with good nuclei recruitment (Fig. 1). Conversely, the epidermis and petals tissues showed peaks with high coefficient of variation (CV) possibly due to the high mucilage content and the elevated concentration of secondary metabolites, which made it difficult to obtain high quality histograms. Histograms from epidermis presented a diploid peak that was hardly visible—sometimes not present at all—a slight tetraploid peak and an octaploid peak concentrating the highest amount of nuclei. Petals, however, always presented three peaks with a diploid peak

lower than the tetraploid and octaploid peaks, both with high nuclei recruitment. On the other hand, root tissue provided histograms with a high quality with respect to the rest and was used to measure genome sizes. Root histograms showed in all samples a sole diploid peak with good nuclei recruitment and a weak—normally absent—tetraploid peak (Fig. 1).

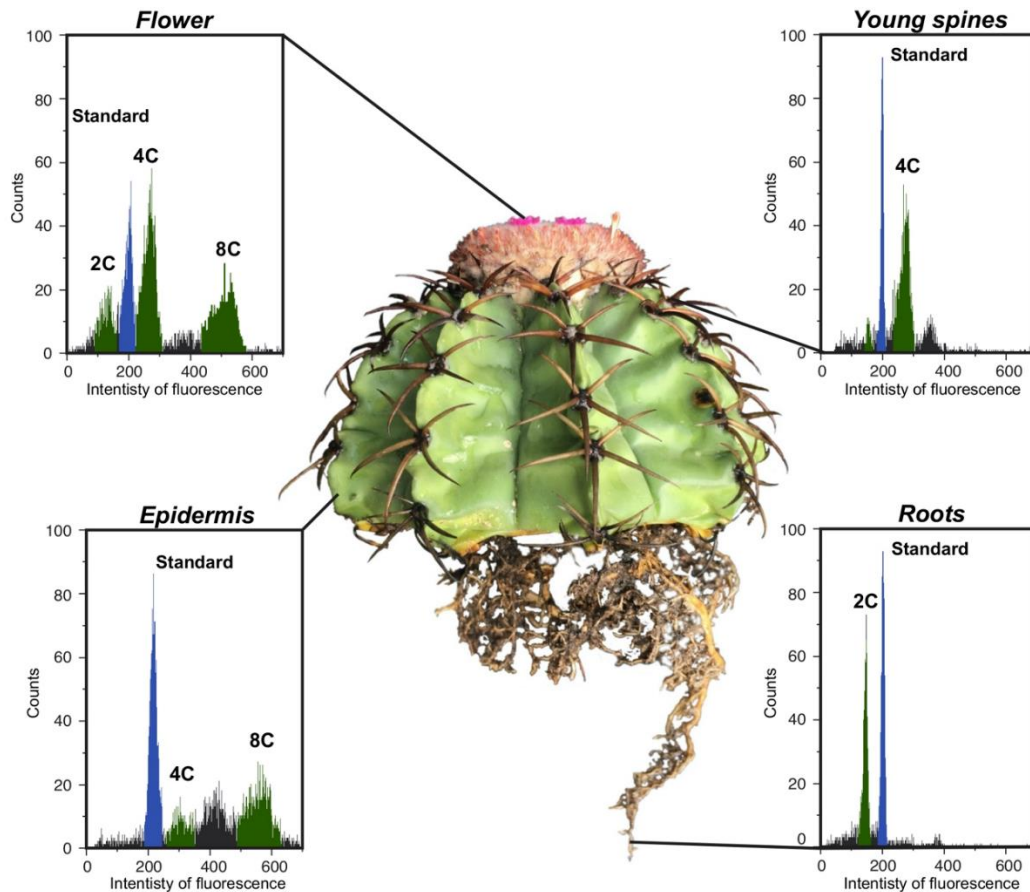


Figure 1 – Relative fluorescence histograms obtained by flow cytometry of *Melocactus zehntneri* (2C = 6.64 pg) based on different organs/ tissues. Leaves of *Pisum sativum* (2C = 9.09 pg) were used as standard reference. Plant image corresponds to *Melocactus paucispinus*

Melocactus 2C values varied 2.36-fold, from 2C = 3.1 pg in *M. violaceus* subsp. *margaritaceus* N.P.Taylor, to 2C = 7.31 pg in *M. paucispinus* Heimen & R.J.Paul (Table 1). In *Pereskia bleo*, a genome size of 2C = 2.49 pg was observed. Overall in our Cactaceae sampling, GS varied 3.42-fold, from 2C = 1.85 pg in *Pereskia aculeata* Mill. to 2C = 8.23 pg in *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck. Our sampling (in total 66 species) represents 4.6% of the 1.450 recognized species in the Cactaceae family, and 20% of the 280 species that have an estimated genomic size available in the literature. The new GS estimates of nine *Melocactus* species and *Pereskia bleo*, plus 55 other estimates of genera *Pereskia*, *Opuntia*, *Mammillaria* and *Hylocereus* recovered from the literature, are listed in Table 1.

Phylogenetic relationships and GS evolution in Cactaceae

Phylogenetic relationships of Cactaceae were based on plastids (*atpB-rbcL*, *psbA-trnH*, *trnL-trnF*, *matk*, *phyC* and *rpl16*) and nuclear (ITS) sequences (Table S1). Figure 2 (a, b, c, d) includes topologies of the four representative genera of the subfamilies Cactoideae, Opuntioideae and Pereskioideae. These trees were built exclusively with species that had genome size available.

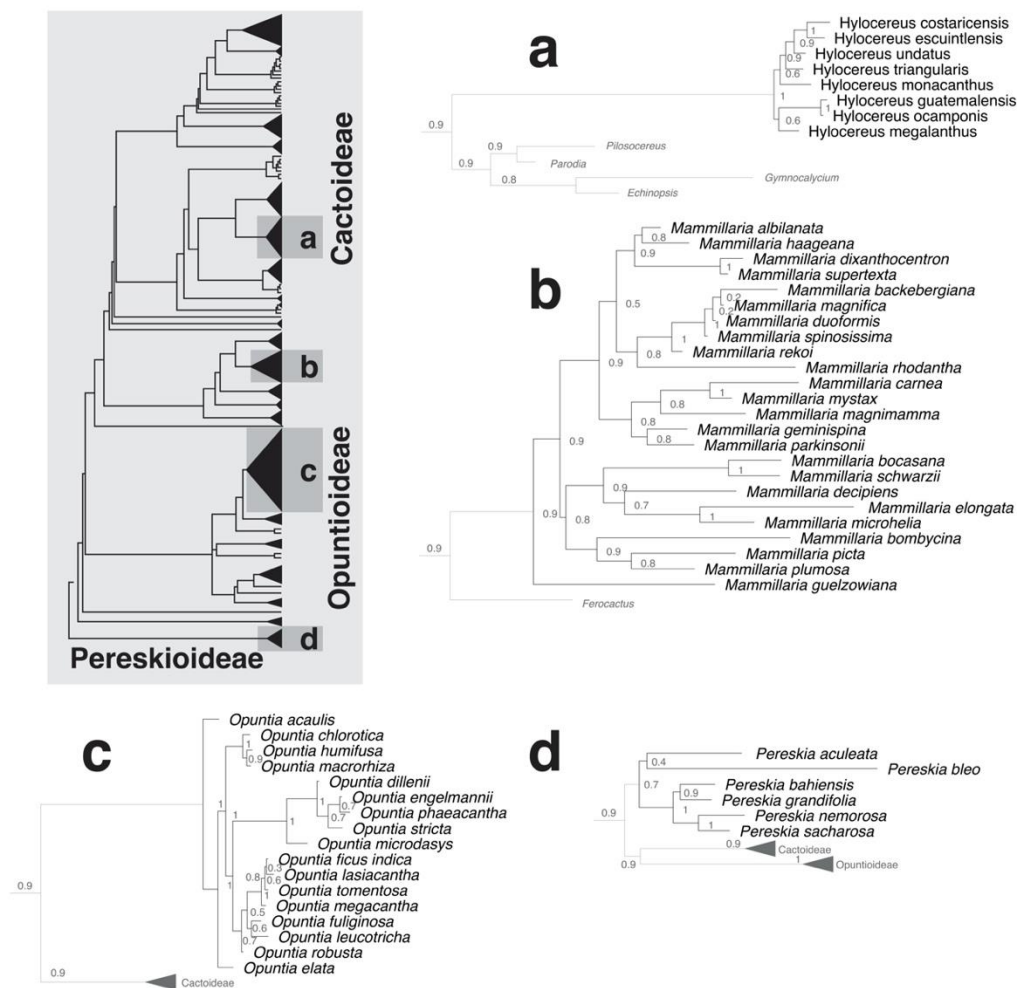


Figure 2 – Phylogenetic relationships of genera of Cactaceae whose genome size trends investigated here. Upper left grey box indicates phylogenetic relationships in the Cactaceae family based on Hernández-Hernández et al. (2011). Letters (a, b, c, and d) indicates the studied genera. Numbers above branches indicate values of posterior probability of the Bayesian inference.

In the analysis in which phylogeny was taken into account (PICs), negative relationships between genome size (GS) and latitude (slope = -0.32, $r^2 = 0.78$, $p = 0.001$), and GS with precipitation seasonality (Bio15: slope = -0.59, $r^2 = 0.64$, $p = 0.035$) were found for *Hylocereus* (Fig. 3A; Table 2). For *Mammillaria*, the relationships were negative between GS

and bioclimatic predictors like annual precipitation (Bio12; slope = -0.24, $r^2 = 0.16$, $p = 0.041$) and seasonal indices related to it like precipitation of wettest month (Bio13; slope = -0.27, $r^2 = 0.16$, $p = 0.043$), and precipitation of wettest quarter (Bio16; slope = -0.2, $r^2 = 0.16$, $p = 0.041$) (see Table 2). Raw correlations using latitudinal midpoints (median) were significant and negative between GS and latitude for *Hylocereus*, *Pereskia* and *Opuntia*, while slightly positive for *Mammillaria* (Table S2). For *Melocactus* GS did not significantly correlate with latitude.

As the sampling for each separated genus was low and missing taxa in the phylogeny could lead to bias in the calculation of PICs (MARCONDES, 2019), we decided to test Pearson's linear correlation. The linear correlation resulted in significant relationships between the 2C-value and environmental variables of temperature and precipitation, as well as for latitude and altitude depending on the genus (see supplementary information, Table S2, for results of Pearson's regressions). Based on Pearson's regression analysis, GS negatively correlated with latitude in *Hylocereus*, *Pereskia* and *Opuntia*, while did positively in *Mammillaria* and showed no correlation in *Melocactus*. Regarding the rest of the variables, GS of all genera were significantly correlated with the annual temperature range (Bio7). In *Hylocereus*, Isothermality (Bio3) and temperature variables (Bio6, Bio7, Bio9 and Bio11) were positively correlated while the precipitation variables (Bio12, Bio14, Bio16—Bio19) influenced to a lesser extent, although positively as well. Variables of temperature seasonality and precipitation seasonality (Bio4 and Bio15) were negatively correlated. In *Mammillaria*, all temperature and precipitation variables were negatively correlated with moderate coefficients. The altitude was positively but slightly correlated. In *Melocactus*, all temperature and precipitation variables correlated strongly and negatively with genome size, while altitude did positively; however,

In *Pereskia*, the temperature variables were positively correlated with GS and presented high coefficients, while the precipitation variables were negatively correlated with GS. In *Opuntia*, both temperature and precipitation variables, and altitude were significantly correlated. However, maximum temperature variables (Bio5 and Bio10) correlated negatively, while the average annual temperature did positively. Precipitation was positively correlated in those variables related to rainy periods, while in dry periods the relationship was negative. The correlation with altitude correlated positively.

Across all genera, genome size did not exhibit significant phylogenetic signal (Pagel's λ , $p > 0.05$), which means that the distribution of the variation of GS between closely or distantly related cacti species resembles a random process. However, although the results

were not significant, for *Hylocereus* and *Opuntia* Pagel's λ was high and/or moderate ($\lambda = 0.9999339$, and $\lambda = 0.4028235$, respectively), suggesting that a larger sample is necessary to test the phylogenetic dependence of the GS with higher analytical power.

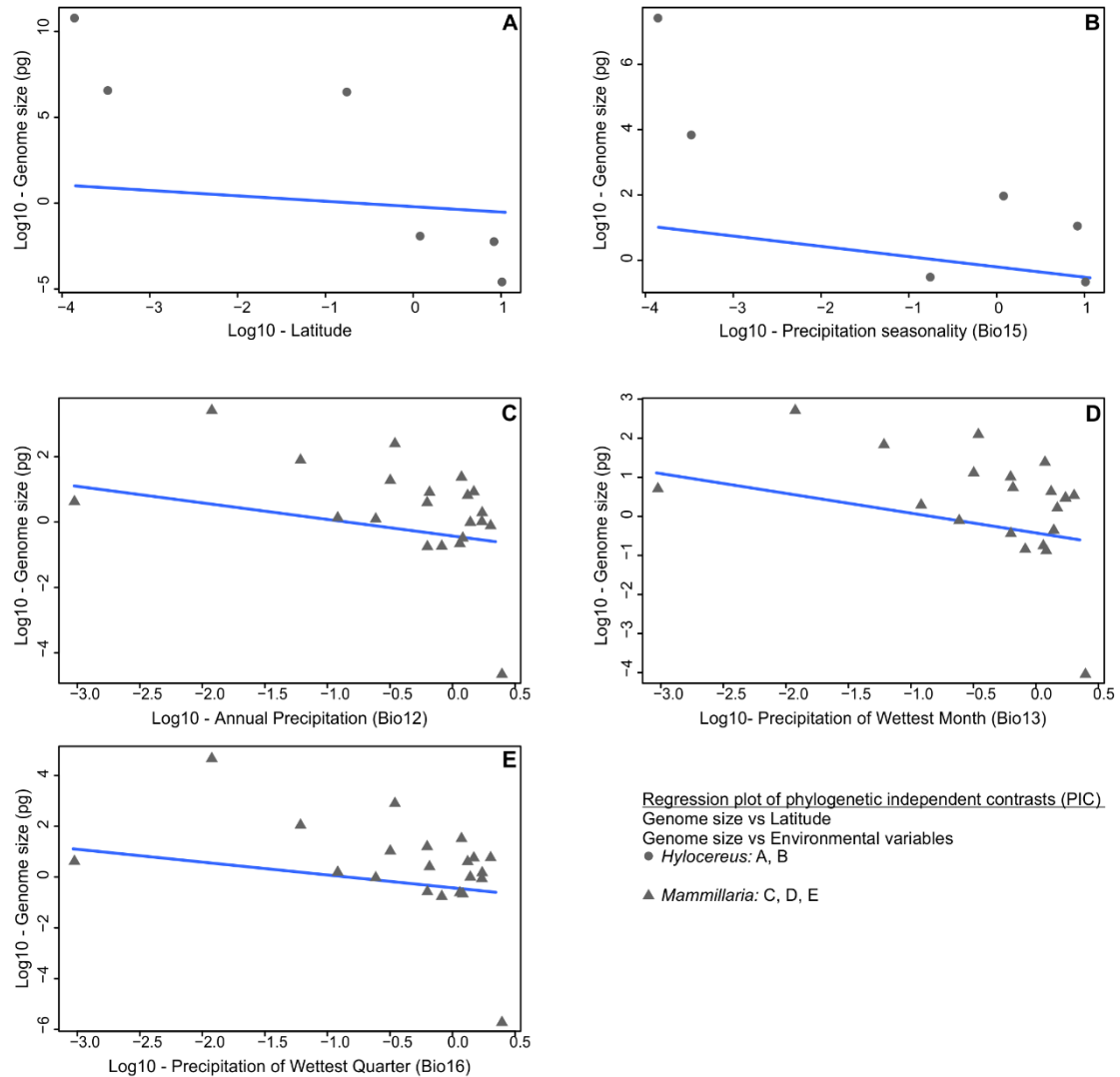


Figure 3 – Relationship between genome size—GS (Log₁₀-2C DNA content), latitudinal midpoint and environmental variables (Log₁₀-transformed) using phylogenetic independent contrasts for species of *Hylocereus* (A, B) and *Mammillaria* (C, D, and E). Solid regression blue lines indicate a significant negative relationship.

Principal Component Analysis

As the different Cactaceae genera analysed here have different geographic ranges (Fig. 4) and occur in varying ecological conditions, we decided to perform a PCA analysis based on environmental variables. In the PCA (Fig. 5) the percentage contribution of each component to the total variation (Table S3) showed that the first principal component (PC1) accounted

for 40% of the total variation in the samples. Altitude contributed more to the variation (0.5), followed by latitude (0.38), Bio7 (0.32) and Bio15 (0.19). All other variables contributed negatively to the first component (Table S3). Second principal component (PC2) contributed with 31% of the total variation. Variables that contributed to the component include Bio5 (0.5), Bio7 (0.49), Latitude (0.23) and Bio1 (0.14). The third principal component accounted for 14% of total variation. Variables contributing were Bio12 (0.2) and altitude (0.02). Latitude contributed in a great amount to PC1 and PC2, as well as Bio7. Altitude was more important in the first component and Bio12 only in the third. The PCA analysis plotting the two first principal components is illustrated in Fig. 5. It is possible to observe that species of the different genera tend to aggregate around distinct nodes, which follow a trend from left to right. *Hylocereus* species occupies the left side of the graphic while *Mammillaria* species are on the right side. In the middle of these two, we can find *Pereskia*, and less conspicuously, *Melocactus*. *Opuntia* was eliminated from the final analysis due to its dispersed distribution across the graphic space caused by its wide natural distribution and lack of niche conservation (being a species considered as invasive), what masked the distribution of the rest of the species.

DISCUSSION

Genome size estimation across Cactaceae family

Despite the very restricted chromosome number variation ($x = 11$; $2n = 22$) (CASTRO et al., 2016; GUERRA, 2008), genome size in Cactaceae varies 14.31-fold from $1C = 0.80\text{pg}$ in *Leptocereus quadricostatus* (Bello) Britton & Rose (LEITCH et al., 2019; NEGRON-ORTIZ, 2007) to $1C = 12.25\text{pg}$ in *Tephrocactus paediophilus* (A.Cast.) F.Ritter (LAS PEÑAS; KIESLING; BERNARDELLO, 2019). Yet, most of the estimates are between *L. quadricostatus* and *Weberbauerocereus winterianus* F. Ritter ($1C = 7.01\text{pg}$; LEITCH et al., 2019), varying 7.76 fold. This variation can be the result of polyploidy events, which is observed in approximately 25% of Cactaceae species and are extremely frequent in genera from Opuntioideae (65%) to Cactoideae (13%) (LAS PEÑAS et al., 2017; MAJURE et al., 2012; PINKAVA; REBMAN; BAKER, 1998), with the highest levels of ploidy in the South American opuntioids *Austrocylindropuntia* Backeberg, *Miqueliopuntia* Fric ex F. Ritter, *Tephrocactus* Lem. and *Mammillaria* Haw. (REBMAN; PINKAVA, 2001). New GS data presented here for nine species of *Melocactus* and *Pereskia bleo* is compatible with the GS range reported in the literature for Cactaceae.

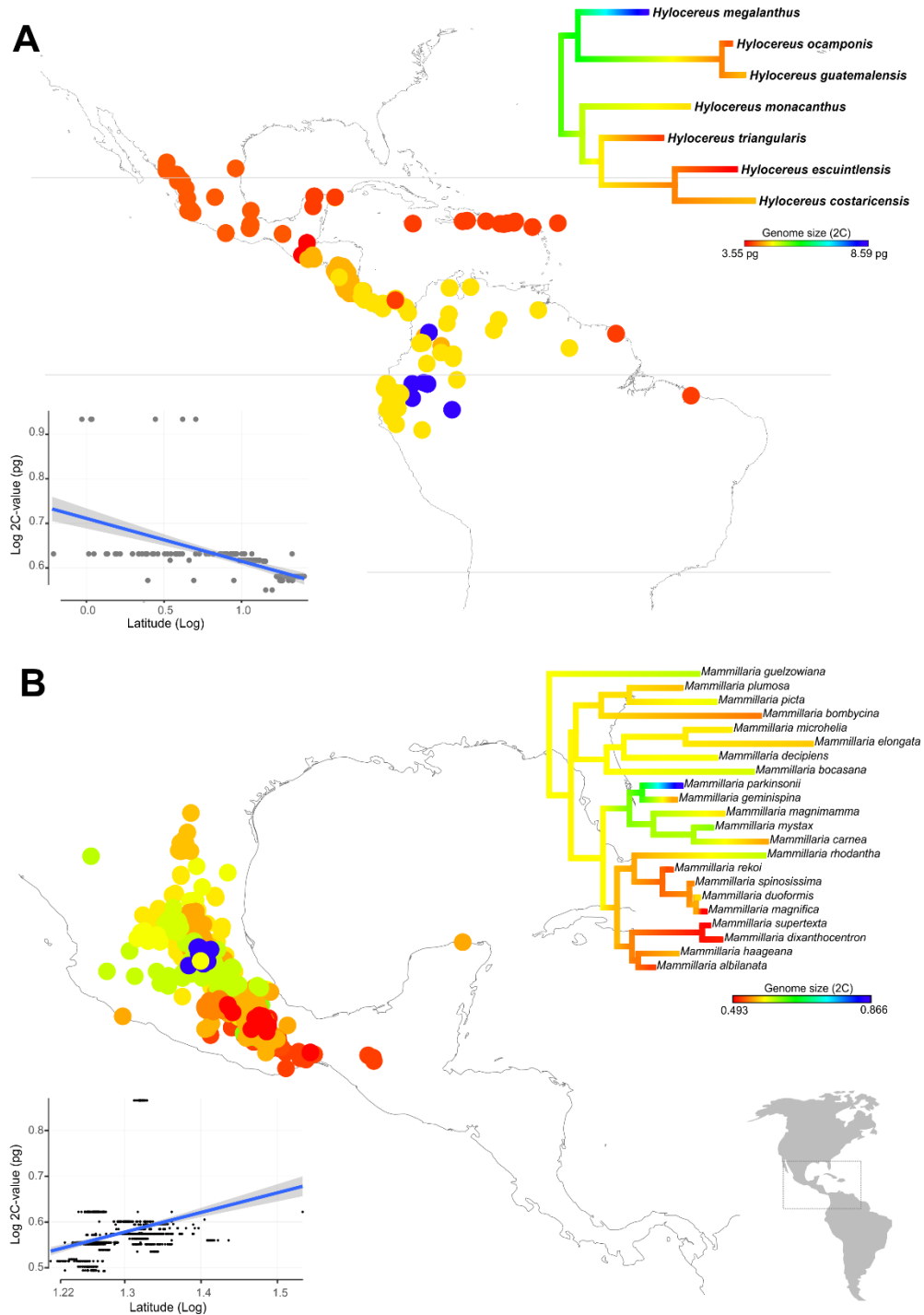


Figure 4 – Maps showing the distribution of *Hylocereus* (A) and *Mammillaria* (B) species (both genres that showed significant PIC correlations) and, on the upper right corners, the respective phylogenetic trees and ancestral character state reconstruction of 2C-values (pg) along branches and nodes. Colours of the branches of phylogenetic trees and of points of occurrence represents the genome size variation according to the caption bar below the phylogenies: hot colors (i.e. red/yellow) correspond to relatively low 2C-values, whereas cold colors (blue) represent high values. Plots of Pearson's correlation analysis between genome size and latitude for each genus are shown on the lower left corner. Only genera with PICs significant results were displayed on maps.

Table 1 – List of Cactaceae species analysed in this study with provenance of material, number of individuals over the total of species measured (n/t), 2C-value in picograms (pg), standard deviation of 2C-value ($\pm$ SD), coefficient of variation from the target species peaks visualized in the histograms obtained by flow cytometry (CV) and reference of GS values.

Genus/ species	Provenance of material	2C (pg)	$\pm$ SD	CV (%)	Reference
Melocactus Link & Otto (Cactoideae)					
<i>M. ernestii</i> Vaupel	Serra de São Bento - RN	6.55	0.06	2.73	This study
<i>M. ferreophilus</i> Buining & Brederoo	Morro do Chapéu - BA	3.36	0.04	3.52	This study
<i>M. inconcinus</i> Buining & Brederoo	Tanhaçu - BA	6.87	0.10	3.68	This study
<i>M. lanssensianus</i> P.J.Braun	Tacima - PB	6.43	0.08	2.28	This study
<i>M. oreas</i> subsp. <i>cremnophilus</i> (Buining & Brederoo) P.J.Braun	Morro do Chapéu - BA	6.39	0.10	2.84	This study
<i>M. pachyacanthus</i> Buining & Brederoo subsp. <i>pachyacanthus</i>	Morro do Chapéu - BA	6.64		3.12	This study
"	Ourolândia - BA	6.86	0.13	3.49	This study
<i>M. paucispinus</i> Heimen & R.J.Paul	Morro do Chapéu - BA	7.31	0.47	3.93	This study
<i>M. violaceus</i> subsp. <i>margaritaceus</i> N.P.Taylor	Santo Amaro das Brotas - SE	3.11	0.02	2.31	This study
<i>M. zehntneri</i> (Britton & Rose) Luetzelb.	Brejo da Madre de Deus - PE	6.64	0.07	3.41	This study
Hylocereus (A.Berger) Britton & Rose (Cactoideae)					
<i>H. costaricensis</i> (F.A.C.Weber) Britton & Rose	-	4.14	0.10	-	Tel-Zur et al., 2011
<i>H. esculintlensis</i> Kimnach	-	3.55	0.13	-	Tel-Zur et al., 2011
<i>H. guatemalensis</i> (Eichlam) Britton & Rose *	-	4.12	0.25	-	Tel-Zur et al., 2011
<i>H. megalanthus</i> (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer	-	8.59	0.21	-	Tel-Zur et al., 2011
<i>H. monacanthus</i> (Lem.) Britton & Rose	-	4.28	0.13	-	Tel-Zur et al., 2011
<i>H. ocamponis</i> (Salm-Dyck) Britton & Rose	-	3.81	0.21	-	Tel-Zur et al., 2011
<i>H. triangularis</i> (syn.H trigonus) (L.) Britton & Rose **	-	3.73	0.21	-	Tel-Zur et al., 2011
<i>H. undatus</i> (Haw.) Britton & Rose †	-	4.10	0.28	-	Tel-Zur et al., 2011
Mammillaria Haw. (Cactoideae)					
<i>M. albilanata</i> Backeb.	-	3.27	0.19	-	Silva, 2015
<i>M. backebergiana</i> F.G. Buchenau †	-	3.42	0.08	-	Silva, 2015
<i>M. bocasana</i> Poselger	-	3.94	-	-	Silva, 2015
<i>M. bombycina</i> Quehl	-	3.43	-	-	Silva, 2015
<i>M. carnea</i> Zucc. ex Pfeiff.	-	3.56	-	-	Silva, 2015
<i>M. decipiens</i> Scheidw.	-	3.84	-	-	Silva, 2015
<i>M. dixanthocentron</i> Backeb.	-	3.18	0.04	-	Del Angel et al., 2006
<i>M. duoformis</i> R.T. Craig & E.Y. Dawson	-	3.73	-	-	Silva, 2015
<i>M. elongata</i> DC.	-	3.66	-	-	Silva, 2015
<i>M. geminispina</i> Haw.	-	3.56	-	-	Silva, 2015
<i>M. guelzowiana</i> Werderm.	-	4.03	-	-	Silva, 2015
<i>M. haageana</i> Pfeiff.	-	3.59	-	-	Silva, 2015
<i>M. magnifica</i> F.G. Buchenau	-	3.11	-	-	Silva, 2015
<i>M. magnimamma</i> Haw.	-	3.75	-	-	Silva, 2015

<i>M. microhelia</i> Werderm.	-	3.76	0.24	-	Silva, 2015
<i>M. mystax</i> Mart.	-	4.19	-	-	Silva, 2015
<i>M. parkinsonii</i> Ehrenb.	-	7.34	-	-	Silva, 2015
<i>M. picta</i> Meinsh.	-	3.86	-	-	Silva, 2015
<i>M. plumosa</i> F.A.C. Weber	-	3.63	-	-	Silva, 2015
<i>M. rekoi</i> Vaupel	-	3.30	-	-	Silva, 2015
<i>M. rhodantha</i> Link & Otto	-	3.99	0.13	-	Silva, 2015
<i>M. schiedeana</i> Ehrenb. ex Schltdl.	-	3.93	0.03	-	Silva, 2015
<i>M. schwarzii</i> Shurly †	-	4.16	-	-	Silva, 2015
<i>M. spinosissima</i> Lem.	-	3.46	0.12	-	Silva, 2015
<i>M. supertexta</i> Mart. ex Pfeiff.	-	3.12	0.04	-	Del Angel et al., 2006
<i>Pereskia</i> Mill. (Pereskioideae)					
<i>P. bleo</i> (Kunth) DC.	Lab. garden	2.49	0.06	3.57	This study
<i>P. aculeata</i> Mill.	-	1.85	0.04	-	Las Peñas et al., 2014
<i>P. bahiensis</i> Gürke		2.35	0.02	-	Las Peñas et al., 2014
<i>P. grandifolia</i> Haworth var. <i>grandifolia</i> ***		2.26	0.14	-	Las Peñas et al., 2014
<i>P. nemorosa</i> Rojas Acosta		2.72	0.01	-	Las Peñas et al., 2014
<i>P. sacharosa</i> Griseb.		2.52	0.2	-	Las Peñas et al., 2014
<i>Opuntia</i> Mill. (Opuntioideae)					
<i>O. acaulis</i> Ekman & Werderm.		7.60	0.00	-	Negron-Ortiz, 2007
<i>O. chlorotica</i> Engelm. & J.M. Bigelow		2.39	0.02	-	Silva, 2015
<i>O. dillenii</i> (Ker Gawl.) Haw. †		5.14	0.09	-	Silva, 2015
<i>O. elata</i> Link & Otto ex Salm-Dyck		3.91	0.10	-	Silva, 2015
<i>O. engelmannii</i> Salm-Dyck ex Engelm.		6.51	0.15	-	Silva, 2015
<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill. †		8.23	0.19	-	Silva, 2015
<i>O. fuliginosa</i> Griffiths		4.64	3.68	-	Segura et al., 2007
<i>O. humifusa</i> (Raf.) Raf.		4.02	0.05	-	Silva, 2015
<i>O. lasiacantha</i> Pfeiff.		4.88	3.81	-	Segura et al., 2007
<i>O. leucotricha</i> DC.		5.71	2.48	-	Segura et al., 2007
<i>O. macrorhiza</i> Engelm.		4.66	0.09	-	Silva, 2015
<i>O. microdasys</i> (Lehm.) Pfeiff.		3.98	0.07	-	Silva, 2015
<i>O. oligacantha</i> Salm-Dyck		5.98	0.04	-	Palomino et al., 2016
<i>O. phaeacantha</i> Engelm.		6.50	0.14	-	Silva, 2015
<i>O. robusta</i> J.C. Wendl.		4.52	0.08	-	Silva, 2015
<i>O. streptacantha</i> Lem.		5.55	0.12	-	Silva, 2015
<i>O. stricta</i> (Haw.) Haw.		6.17	0.11	-	Silva, 2015
<i>O. tomentosa</i> Salm-Dyck		8.23	0.20	-	Silva, 2015
* Synonym of <i>Hylocereus undatus</i> (Haw.)					

Britton & Rose					
** Synonym of <i>Hylocereus trigonus</i> (Haw.) Saff.					
*** Synonym of <i>Pereskia grandifolia</i> Haw.					
† Invasive species					

Table 2 – Summary of the correlation tests that yield significant results ($P < 0.05$) for both Pearson's correlation with raw species means and Phylogenetic Independent Contrasts

Genome size vs ecological traits	Pearson's correlation				Phylogenetic independent contrasts		
<i>Hylocereus</i> (A. Berger) Britton & Rose	Slope	R	Adjusted-R ²	<i>p</i>	Slope	Adjusted-R ²	<i>p</i>
Precipitation Seasonality (Bio15)	-0.16428	-0.49	0.2349	5.6e ⁻¹²	-0.5942	0.6395	0.03479
Latitude	-0.09627	-0.54	0.2824	2e ⁻¹⁴	-0.31522	0.7815	0.0122
<i>Mammillaria</i> Haw.	Slope	R	Adjusted-R ²	<i>p</i>	Slope	Adjusted-R ²	<i>p</i>
Annual Precipitation (Bio12)	-0.10162	-0.21	0.04504	6.1e ⁻¹³	-0.2396	0.1593	0.04131
Precipitation of Wettest Month (Bio13)	-0.0941	-0.22	0.04544	4.8e ⁻¹³	-0.2683	0.1554	0.04346
Precipitation of Wettest Quarter (Bio16)	-0.08983	-0.21	0.04446	8.6e ⁻¹³	-0.19673	0.16	0.04092

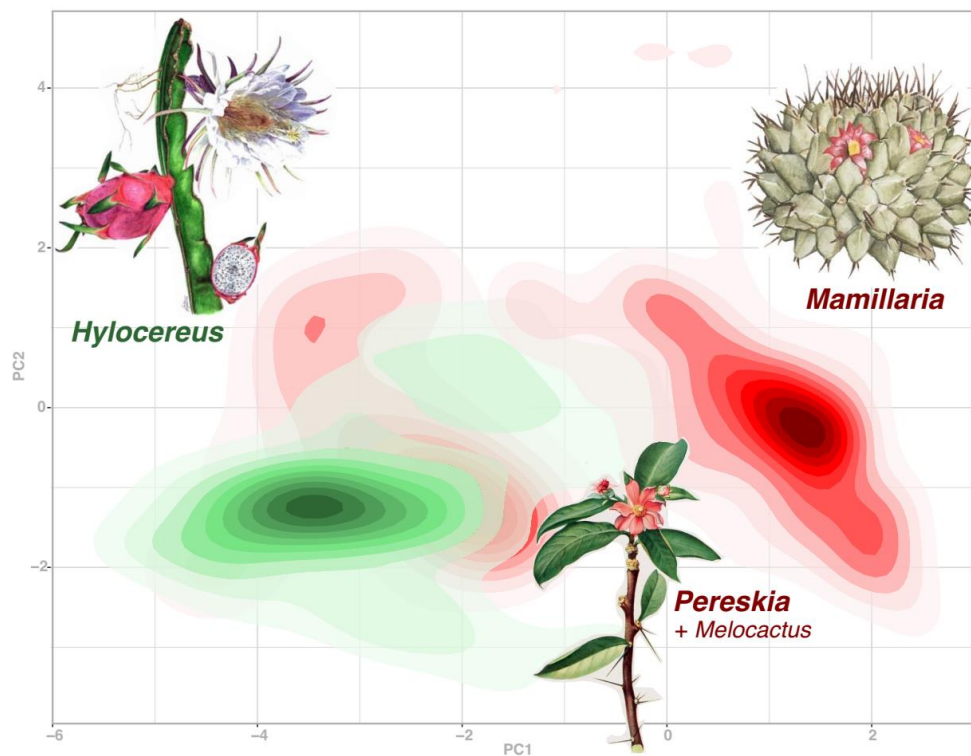


Figure 5 – Density plot of the two most informative axis of the Principal Component Analysis performed with 19 bioclimatic variables, latitude and altitude. Colours of the density regions refers to the colours of the names of the respective species.

The analysis of our histograms obtained from the flow cytometer showed the presence of different ploidy levels within the same tissue (2C, 4C and 8C) depending the tissue analysed, evidencing the phenomena of endoreduplication occurring in petals, epidermis and young spines. The endoreduplication is the DNA duplication without chromosome segregation and subsequent cytokinesis (CHEVALIER et al., 2011; DE VEYLLER; LARKIN; SCHNITTGER, 2011). Endoreduplication is the most common mode of polyploidization in plants and can be found in many cell types, especially in those undergoing differentiation and expansion (leaves, root tips, and somatic embryos) (JOUBÈS; CHEVALIER, 2000). Yet, other factors like light quality, life cycle, genome size, organ type, tissue age and taxonomic position influence significantly endopolyploidization within a species, the latter being the major factor determining the degree of endopolyploidy (BAROW; MEISTER, 2003; JOUBÈS; CHEVALIER, 2000; PARK; YEUNG; PAK, 2010).

The comparison between the histograms of all tissues allowed the identification of the different peaks in petals and epidermis (2C, 4C and 8C) and young spines (2C and 4C). In both petals and epidermis, the coefficient of variation of the peaks was relatively high, probably due to high mucilage content (CIRES et al., 2011) or the presence of secondary metabolites (BENNETT; PRICE; JOHNSTON, 2008; WANG; LIU; KANG, 2015) that interfere with the measurement. In young spines, coefficient of variation of 4C peak was within acceptable values, suggesting that young spines are a suitable alternative for quality measurements in Cactaceae. However, not all apparently similar young spine samples provided good measurements and the causes of this variation could not be determined. In root samples, best measurements were obtained from segments 4-5cm long and 1-2mm section, where only the diploid peak was consistently observed. It showed that endoreduplication does not occur in *Melocactus* root system, which is in accordance with what was found in *Hylocereus* by (MENEZES et al., 2016). In addition, the low coefficient of variation and the low amount of mucilage make this tissue the most suitable for measurements in Cactaceae.

Correlation between genome size diversity and environmental variables show contrasting patterns between Cacti genera

The relationships between GS and the environmental variables observed in our cacti analysis were contrasting depending on the genus. While PIC analysis—which take into account phylogenetic relationships—showed significant correlations between GS and environmental factors in *Mammillaria* and *Hylocereus*, the contrary was observed in *Pereskia*,

and *Opuntia*. Interestingly, *Mammillaria* and *Hylocereus* appear as complete opposites regarding their ecological range, while *Pereskia* shows an intermediate range (Fig. 5). In macroevolutionary analysis with high number of taxa, it is common that different subclades present different and even contrasting evolutionary trends (HULTGREN et al., 2018).

Discrepancies between Pearson regression and phylogenetic independent contrast (PICs) analyses have arose in our study. Results showed that Pearson regressions had more variation explained with stronger correlations coefficients than PICs. This pattern has been observed in previous works in *Acer* (ACKERLY; DONOGHUE, 1998) and a broad array of seed plants (ACKERLY; REICH, 1999). According to Knight and Beaulieu (2008) a strong regression together with weak independent contrasts imply that large ancestral divergences deep in the phylogeny are more influential than more recent divergences, as apparently happened after the divergence between angiosperms and gymnosperms regarding genome size. A significant shift in this trait upwards in phylogeny at the time of divergence determined genome size variation among extant species, as subsequent changes downwards followed a conserved reduction in genome size between the angiosperms. Cactaceae is a family with an outstanding diversity in growth forms and adaptive solutions between and within its subfamilies and its genera (ANDERSON, 2001; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2011). However, conservatism of traits occur at higher taxonomic levels like adaptation to arid or high-salinity habitats in Core Caryophyllales, specifically the “portulacaceous alliance” of families, which includes Cactaceae (DONOGHUE, 2008). Thus, a more comprehensive analysis tracing phylogenetic history of genome size in Cactaceae, including higher clades in Caryophyllales, and its correlation with environmental factors will be necessary for better understanding the patterns observed.

Although the precise mechanisms and direction are still unclear, recent studies have confirmed the impact of fluctuations in temperature and precipitation for genome plasticity (MÜLLER; ZOTZ; ALBACH, 2019; VAN-LUME et al., 2017). Our data showed that the genome plasticity in Cactaceae might be another example of the influence of these environmental variables. In *Mammillaria*, both PIC and Pearson’s correlation analysis revealed that precipitation is an important factor for GS variability showing that species with smaller genomes tend to inhabit areas with higher water input. *Hylocereus* behaves in a contrasting way that *Mammillaria* showing that species with smaller genomes are more present in areas where rain is highly variable and seasonal, while species with larger genomes are more frequent across areas where annual precipitation is constant. Same pattern applies to

what was observed between GS and seasonality of temperature (Bio4) in both species, as was showed by Pearson's correlation.

Regardless of the effect direction, Pearson's correlation analysis showed that GS of all genera correlated significantly with annual temperature range (Bio7) and annual precipitation (Bio12), corroborating that temperature fluctuation and water availability could be a good predictors for genome size variation in Cacti. In relation to temperature variables (annual mean Bio1 and quarterly averaged Bio6, 9, 11), lower GS in *Mammillaria* and *Melocactus* were common in regions of higher temperatures, which is expected according to Knight et al. (2005); yet in *Pereskia* and *Hylocereus*, the trend was inverse. Regarding precipitation variables (annual mean Bio12 and quarterly averaged Bio14, 16), lower GS in *Mammillaria*, *Pereskia* and *Melocactus* were common in regions of higher water availability, while in *Hylocereus* there was an inverse leaning. These results are especially intriguing in Cactaceae knowing that the morphology and physiology of these plants is greatly influenced by the water limitations and extreme temperatures of their habitats (LÜTTGE, 2004; MAUSETH, 2006), again pointing to a possible adaptive role of GS variability.

In comparative studies, geographical clines are useful as a proxy to environmental variables. Latitudinal and altitudinal gradients can provide a great framework to understand how trait variability can be directly correlated with geographic distribution (BILINSKI et al., 2018; SOUZA et al., 2019). In *Mammillaria*, *Opuntia* and *Melocactus*, Pearson's correlations revealed that altitude affected the distribution of the GS, showing that larger genomes are more common at higher altitudes. In contrast, the latitude gradient showed a negative correlation showed that the species of *Hylocereus*, *Pereskia* and *Opuntia* with larger genomes were more common at lower latitudes, while *Mammillaria* species behaved inversely. PICs results supported that latitude had a significant weight on the distribution of the variation of the GS in *Hylocereus*. *Mammillaria* behaves as expected for a drought-adapted plant that is mainly distributed across the succulent biome, where distinctively a lengthy dry season follows a short wet season containing most of the precipitation (~80%) (MAASS; BURGOS, 2011). Stressful conditions in this habitat, like high temperatures and low water availability, tend to drive smaller genomes towards lower latitudes and restrict larger genomes to subtropical temperate regions (Souza et al. 2019) by cause of the known limitations of large genomes in dry environments (BEAULIEU et al., 2008). The results observed by Kang et al. (2014) in *Primulina* species occurring in Karst environments (characterized by soil nutrient scarcity, drought and heat stress) support the Knight et al. (2005) hypothesis where small genome size evolves as an adaptation to stressful environments constrained by the nutrient

and energy cost associated with seedling establishment and growth. The trend observed in *Mammillaria* coincides with this pattern as this genus inhabits a similar extreme and restrictive environment and its population dynamics are highly affected by seedling establishment conditions and survival (CERVERA et al., 2006; VALVERDE et al., 2004).

The negative correlation between GS and latitude observed in *Hylocereus* seems to dissent from what is expected from the Knight et al. (2005) large genome constraint hypothesis, where species with large genomes are likely excluded from habitats with extreme and stressful environmental conditions, if we consider the succulent biome that is common to most of cacti. Notwithstanding, *Hylocereus* species are particular in the form of growth and habitat in which natural populations occur. These plants, mostly hemi-or holoepiphytic and clambering, are adapted to humid or subhumid environments with low luminosity (GIBSON; NOBEL, 1986; KOROTKOVA; BORSCH; ARIAS, 2017) and are native from the tropical region of America (HUNT; TAYLOR; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP, 2006), where warm temperatures, high water availability and humidity vary little seasonally (LÜTTGE, 2008). This type of habitat is infrequent in cacti, most of which are particularly adapted to dry and xeric environments and are especially vulnerable to high humidity and fungi (WENIGER, 1969). Hence, it draws the idea that a drought-adapted plant that eventually occupies a predominantly humid new habitat is exposed to stressful conditions as well to which it must adapt to thrive.

Recent studies have been revisiting the hypothesis proposed by (AVDULOW, 1931) and (STEBBINS, 1966), who proposed based on studies on grasses and leguminous plants, respectively, that tropical genera have smaller chromosomes (therefore genome size) than those of temperate climates. Although several groups of plants seem to follow this pattern (BEAULIEU et al., 2008; DÍEZ et al., 2013; JORDAN et al., 2015; KANG et al., 2014; KNIGHT; ACKERLY, 2002; MÜLLER; ZOTZ; ALBACH, 2019; SOUZA et al., 2019; VESELÝ et al., 2012), the contrasting correlation found for *Hylocereus* is not odd. Other previous studies involving plant groups, suchs as *Pinus* L. (GROTKOPP et al., 2004), *Zea* L. (RAYBURN et al., 1985), *Festuca* (CECCARELLI; FALISTOCCO; CIONINI, 1992), and *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (SCHMUTHS et al., 2004), have revealed a negative correlation between GS and latitude as well.

Previous correlations between GS and environmental parameters such as altitude, latitude, temperature and precipitation revealed that life-history strategies may exert selection on GS (BILINSKI et al., 2018; DU et al., 2017; GROTKOPP et al., 2004; KANG et al., 2014; KNIGHT; ACKERLY, 2002; KNIGHT; MOLINARI; PETROV, 2005; LYU et al., 2018).

Most found patterns from environmental correlations between GS and aspects of plant growth show that larger genomes will likely be excluded from extreme and/or shifting environments where growing seasons are shorter and positive natural selection for more rapid growth, accelerated reproduction and a smaller GS are coercive (BENNETT, 1987; BILINSKI et al., 2018; FRANCIS; DAVIES; BARLOW, 2008; GROTKOPP et al., 2004; MOWFORTH; GRIME, 1989).

However, in a similar way as our findings for *Hylocereus*, Qiu et al. (2019) found in *Helianthus* L. diploids a significant negative association of GS with temperature seasonality, suggesting that the evolution of larger GS may be more permissible in habitats where environmental factors are less seasonal, therefore with longer growing seasons, and where selection for accelerated growth may be relaxed.

Nuclear DNA content, as well as physiology and life history traits correlated to it, may undergo selection pressures induced by environmental factors correlated with altitude or latitude. This has pointed to the idea that genome size can also impose significant ecological constraints, restricting the range of tolerable environmental conditions in which a plant with a large genome can survive (KNIGHT; MOLINARI; PETROV, 2005), and suggesting that the variation in DNA content carries an adaptive value (DUŠKOVÁ et al., 2010; LYU et al., 2018; TRÁVNÍČEK et al., 2019). For Cactaceae, particularly for genera typically xeric like *Mammillaria*, our results show a trend compatible with other plant groups that are characteristic from succulent biomes where lower DNA amounts are more widespread in lower latitudes in response to GS constraining conditions like highly seasonal water availability and extremely high temperatures that require faster developing times in short growing seasons. However, considering *Hylocereus* characteristics, results show an inverted tendency for higher genomes abounding towards lower latitudes and increasing temperatures, which could point to an advantage of high GS in forest environments also considered extreme for this family, though less seasonal alleviating growing rates and more favourable in terms of water availability.

Generally, as latitude increases, both temperature and annual rainfall decrease and rainy season becomes more seasonal (ALLEN et al., 2017). Although desert cacti are among the most tolerant of high temperatures among vascular plant species, they depend on maintaining a high water-use efficiency in dry and hot environments with erratic water input (NOBEL, 2003). Tropical forest environments where hemiepiphytic cacti like *Hylocereus* are native provide a constant greater water availability and humidity (helping sustain transpiration and diminish transpirational water loss) together with an optimal temperature, to which these

plants are well-suited, that enhances their productivity (NOBEL, 2003, 2009; NOBEL; BARRERA, 2002). This ecophysiological dynamics may be what allows the predominance of large genomes in lower latitude environments and restricts them in higher latitudes, the way it was observed in *Hylocereus*.

Additionally, the hypothesis that species with small genome grow faster has been questioned. Recent studies revealed that under non-limiting nutrient conditions species with large genome size compete successfully with species with smaller genome size in terms of biomass production (MÜLLER; ZOTZ; ALBACH, 2019; and references herein).

Adaptive models propose selection pressures as a driver towards a stable optimum (GREGORY; HEBERT; KOLASA, 2000), while other models suggest that neutral evolution (LYSAK et al., 2009) and genetic drift leads to not entirely advantageous adaptations in relation to genomic size (GURUSHIDZE; FUCHS; BLATTNER, 2012; KUO; MORAN; OCHMAN, 2009; LYNCH; CONERY, 2003). In both ways, empirical evidence is conflicting and the understanding of the processes involved demands further research on how different plant life strategies and environmental factors influence genome size variations.

The impact of the “biome shift” in the interaction between the genome and the environment in *Hylocereus*

The association of environmental changes with genetic alterations is a well-studied phenomenon. In some groups of plants that endured changes in the habitat throughout its evolution, or biome shifts, activation of mechanisms of genetic alteration has been documented. Species behaviour involves niche expansion, by running through the limits imposed by the climatic conditions in which they occur. This expansion has been associated with the accumulation of random variation, or stabilizing selection, whereby adaption to novel abiotic and biotic conditions in the colonized biome is possible (reviewed in Jara-Arancio et al. 2014). In *Leucocoryne* Lindl. (Amaryllidaceae), for example, increases in number of 5S rDNA sites were associated with biome shifts from sclerophyll to arid winter-rainfall region that occurred in two clades independently (SOUZA; CROSA; GUERRA, 2015). In Neotropical Maxillariinae orchids, transposable elements activation was proposed as a consequence of two ecological changes: when plants moved from Amazonian to southern Brazil increases on the number of 5S rDNA sites were observed, and as habitat shifted from epiphytic to rupicolous, a new small 45S rDNA pair of sites appeared in rupicolous plants. Those genetic responses to habitat shifts were associated to GS variation, which presented a

high correlation with phylogeny, species adaptation and morphological variation (MORAES et al., 2017). The pattern observed in *Hylocereus* in the present work resembles to what happens in the groups of plants that underwent changes in habitat. The principal component analysis (PCA; Figure 5) showed that *Hylocereus* species occupied a different ecological space (green, lower left corner) than the rest of the cacti involved, which characteristically belong to typically dry environments. *Mammillaria* appeared as pink and located to the upper right corner in the graph, allowing interpreting an aridity gradient from left to right. *Pereskia* is located in the middle of the space defined above, contrasting with *Mammillaria*, and between this genus and the ecological space occupied by *Hylocereus*, corroborating the contrasting patterns observed in *Pereskia* in the correlation analysis.

Another genetic response to environmental changes is polyploidization. Polyploidy is widespread in Cactaceae (ARAKAKI et al., 2011; NEGRON-ORTIZ, 2007) and is recognized as a major force in plant evolution, affecting diversification and speciation favouring high genetic variability and providing opportunities for genetic differentiation that would later become adaptive advantages (MADLUNG, 2013; SOLTIS et al., 2009). Polyploids carry several advantages including the increased number of alleles allowing masking of deleterious recessive mutations, often-stable heterosis allowing transgressive performance, and the potential of duplicated genes to acquire new or slightly varied functions. Their greater genetic and biochemical diversity and thus greater ecological tolerance allow polyploids to have larger geographic ranges and/or occur in more habitats than diploids (LEVIN, 2002), and even facilitate invasiveness (reviewed in WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2013). Thus, polyploidization after biome shifts could be the explanation for the GS increases correlations with smaller latitudes observed in *Hylocereus*. Intriguingly, negative correlations were still observed when using the monoploid GS (1Cx). It suggests that the polyploidy observed on *H. megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer may not have affected the tendency in the variation of GS within the dataset we analysed for this genus, as it was observed in natural populations of *Festuca arundinacea* (where increasing ploidy levels, from 4x to 6x, 8x and 10x, were observed from northern to southern populations, from France to Northern Africa) (CECCARELLI; FALISTOCCO; CIONINI, 1992). Notwithstanding, it is frequently described in plants that adaptation to local environments is associated to TE-induced mutations as they can generate the genetic diversity that is required to respond to environmental stressful changes (CASACUBERTA; GONZÁLEZ, 2013), for example, to high latitudes in soybean (KANAZAWA et al., 2009; LIU et al., 2008), and light-regulation of gene expression in *Arabidopsis* (LIN et al., 2007). Therefore, it could indicate that other

genomic processes besides poliploidyization, such as accumulation of TEs, could account for the increase in GS in *Hylocereus*.

Cactaceae diversification is congruent with the origin of the American Succulent Biome during the Miocene and it is proposed that cacti originated adapting to those arid environments (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014). Although the entire family is of recent diversification (ARAKAKI et al., 2011), lineages like Cactaceae (within Cactoideae) comprising the arid representatives of cacti (i.e. *Mammillaria*), are relatively older than Hylocereeae, which contains the hemi- and holoepiphytic cacti (i.e. *Hylocereus*) and diverged from Cactoideae rapidly radiating to novel growth forms and pollination syndromes associated with changes in growth forms in non-xeric environments (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014; NOBEL, 2002).

Hence, we propose here that the negative correlation between GS and latitude in *Hylocereus*, contrary to the expected (AVDULOW, 1931; STEBBINS, 1966), which leads to a trend of increasing DNA amount towards lower latitudes, can be a reflex of a biome shift from the arid environments to the humid tropical forests. At this point, the activation of mechanisms of genome expansion, possibly by proliferation of repetitive sequences, against new environmental conditions permitted the generation of raw variability needed for adaption.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank the Brazilian agencies Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for a productivity fellowship for G.S. (process number PQ - 310693/2018-7) and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE - APQ- 0970- 2.03/15) for financial support. This study was financed in part by the CAPES (Brazil) – Finance Code 001.

REFERENCES

- ACKERLY, D.; REICH, P. Convergence and Correlations among Leaf Size and Function in Seed Plants: A Comparative Test Using Independent Contrasts. **American journal of botany**, v. 86, p. 1272–81, 1 out. 1999.
- ACKERLY; DONOGHUE. Leaf Size, Sapling Allometry, and Corner's Rules: Phylogeny and Correlated Evolution in Maples (*Acer*). **The American Naturalist**, v. 152, p. 767, 1 dez. 1998.

AKAIKE, H. A New Look at the Statistical Model Identification. In: **Selected Papers of Hirotugu Akaike**. Springer Series in Statistics. [s.l.] Springer, New York, NY, 1974. p. 215–222.

ALLEN, K. et al. Will seasonally dry tropical forests be sensitive or resistant to future changes in rainfall regimes? **Environmental Research Letters**, v. 12, n. 2, p. 023001, fev. 2017.

ANDERSON, E. F. **The cactus family**. Portland, Or: Timber Press, 2001.

ARAKAKI, M. et al. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 20, p. 8379–8384, 17 maio 2011.

AVDULOW, N. P. **Karyo-systematische untersuchung der Familie Gramineen**. Leningrad: [s.n.].

BAROW, M.; MEISTER, A. Endopolyploidy in seed plants is differently correlated to systematics, organ, life strategy and genome size. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, n. 4, p. 571–584, abr. 2003.

BARTHLOTT, W.; HUNT, D. R. Cactaceae. In: KUBITZKI, K.; ROHWER, J. G.; BITTRICH, V. (Eds.). **Flowering Plants · Dicotyledons**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1993. p. 161–197.

BASAK, S. et al. Genome Size Unaffected by Variation in Morphological Traits, Temperature, and Precipitation in Turnip. **Applied Sciences**, v. 9, n. 2, p. 253, 11 jan. 2019.

BAUK, K. et al. Contenido de ADN y patrón de genes ribosomales en el género monotípico *Stetsonia* (Cactaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 51, n. 2, p. 323, 15 jun. 2016.

BEAULIEU, J. M. et al. Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. **The New Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 975–986, 2008.

BENNETT, M. D. Variation in Genomic Form in Plants and Its Ecological Implications. **New Phytologist**, v. 106, n. s1, p. 177–200, 1987.

BENNETT, M. D.; BHANDOL, P.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA Amounts in Angiosperms and their Modern Uses—807 New Estimates. **Annals of Botany**, v. 86, n. 4, p. 859–909, 1 out. 2000.

BENNETT, M. D.; PRICE, H. J.; JOHNSTON, J. S. Anthocyanin Inhibits Propidium Iodide DNA Fluorescence in *Euphorbia pulcherrima*: Implications for Genome Size Variation and Flow Cytometry. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 777–790, 13 mar. 2008.

BENNETT, M. D.; SMITH, J. B.; SMITH, R. I. L. DNA amounts of angiosperms from the Antarctic and South Georgia. **Environmental and Experimental Botany**, v. 22, n. 3, p. 307–318, 1 ago. 1982.

BENSON, D. A. et al. GenBank. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. D1, p. D36–D42, 1 jan. 2013.

BILINSKI, P. et al. Parallel altitudinal clines reveal trends in adaptive evolution of genome size in *Zea mays*. **PLOS Genetics**, v. 14, n. 5, p. e1007162, 10 maio 2018.

CASACUBERTA, E.; GONZÁLEZ, J. The impact of transposable elements in environmental adaptation. **Molecular Ecology**, v. 22, n. 6, p. 1503–1517, 2013.

CASTRO, J. P. et al. CMA band variability and physical mapping of 5S and 45S rDNA sites in Brazilian Cactaceae: Pereskioideae and Opuntioideae. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 613–620, jun. 2016.

CECCARELLI, M.; FALISTOCCO, E.; CIONINI, P. G. Variation of genome size and organization within hexaploid *Festuca arundinacea*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 83, n. 3, p. 273–278, 1 jan. 1992.

CERVERA, J. C. et al. Microhabitats, Germination, and Establishment for *Mammillaria gaumeri* (Cactaceae), a Rare Species from Yucatan. **International Journal of Plant Sciences**, v. 167, n. 2, p. 311–319, mar. 2006.

CHÉNAIS, B. et al. The impact of transposable elements on eukaryotic genomes: From genome size increase to genetic adaptation to stressful environments. **Gene**, v. 509, n. 1, p. 7–15, 1 nov. 2012.

CHEVALIER, C. et al. Elucidating the functional role of endoreduplication in tomato fruit development. **Annals of Botany**, v. 107, n. 7, p. 1159–1169, 1 maio 2011.

CIRES, E. et al. Isolation of plant nuclei suitable for flow cytometry from species with extremely mucilaginous compounds: an example in the genus *Viola* L. (Violaceae). **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, v. 68, n. 2, p. 139–154, 30 dez. 2011.

DARRIBA, D. et al. jModelTest 2: more models, new heuristics and high-performance computing. **Nature methods**, v. 9, n. 8, p. 772, 30 jul. 2012.

DAS, A. B.; MOHANTY, S.; DAS, P. Meiotic Behaviour and Nuclear DNA Variation in Some Species of *Mammillaria* (Cactaceae). **CYTOLOGIA**, v. 62, n. 3, p. 253–257, 1997.

DAS, A. B.; MOHANTY, S.; DAS, P. Interspecific Variation in Nuclear DNA Content and Chromosome Analysis in *Melocactus*. **CYTOLOGIA**, v. 63, n. 3, p. 239–247, 1998a.

DAS, A. B.; MOHANTY, S.; DAS, P. Variation in Karyotype and 4C DNA Content in Six Species of *Melocactus* of the Family Cactaceae. **CYTOLOGIA**, v. 63, n. 1, p. 9–16, 1998b.

DE VEYLDER, L.; LARKIN, J. C.; SCHNITTGER, A. Molecular control and function of endoreplication in development and physiology. **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 11, p. 624–634, 1 nov. 2011.

DEL ANGEL, C. et al. Nuclear genome size and karyotype analysis in *Mammillaria* species (Cactaceae). **Caryologia**, v. 59, n. 2, p. 177–186, jan. 2006.

DÍEZ, C. M. et al. Genome size variation in wild and cultivated maize along altitudinal gradients. **The New phytologist**, v. 199, n. 1, p. 264–276, jul. 2013.

DOLEŽEL, J.; BINAROVÁ, P.; LCRETI, S. Analysis of Nuclear DNA content in plant cells by Flow cytometry. **Biologia Plantarum**, v. 31, n. 2, p. 113–120, mar. 1989.

DOLEŽEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. **Nature Protocols**, v. 2, n. 9, p. 2233–2244, set. 2007.

DONOGHUE, M. J. A phylogenetic perspective on the distribution of plant diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. Supplement 1, p. 11549–11555, 12 ago. 2008.

DU, Y. et al. Genome Size Diversity in *Lilium* (Liliaceae) Is Correlated with Karyotype and Environmental Traits. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 26 jul. 2017.

DUŠKOVÁ, E. et al. Genome size correlates with growth form, habitat and phylogeny in the Andean genus *Lasiocephalus* (Asteraceae). **Preslia**, v. 82, n. 1, p. 127–148, 2010.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 5, p. 1792–1797, 2004.

EDWARDS, E. J.; NYFFELER, R.; DONOGHUE, M. J. Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 7, p. 1177–1188, jul. 2005.

FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the Comparative Method. **The American Naturalist**, v. 125, n. 1, p. 1–15, jan. 1985.

FRANCIS, D.; DAVIES, M. S.; BARLOW, P. W. A Strong Nucleotypic Effect on the Cell Cycle Regardless of Ploidy Level. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 747–757, abr. 2008.

GALBRAITH, D. W. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. **Science (New York, N.Y.)**, v. 220, n. 4601, p. 1049–1051, 3 jun. 1983.

GIBSON, A. C.; NOBEL, P. S. **The cactus primer**. Cambridge, Mass: Harvard University Press, 1986.

GREGORY, T. R.; HEBERT, P. D. N.; KOLASA, J. Evolutionary implications of the relationship between genome size and body size in flatworms and copepods. **Heredity**, v. 84, n. 2, p. 201–208, fev. 2000.

GREILHUBER, J. et al. The Origin, Evolution and Proposed Stabilization of the Terms ‘Genome Size’ and ‘C-Value’ to Describe Nuclear DNA Contents. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 255–260, 1 jan. 2005.

GREILHUBER, J. Cytochemistry and C-values: the less-well-known world of nuclear DNA amounts. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 791–804, abr. 2008.

GROTKOPP, E. et al. Evolution of Genome Size in Pines (pinus) and Its Life-History Correlates: Supertree Analyses. **Evolution**, v. 58, n. 8, p. 1705–1729, 2004.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, n. 3–4, p. 339–350, 2008.

- GURUSHIDZE, M.; FUCHS, J.; BLATTNER, F. R. The Evolution of Genome Size Variation in Drumstick Onions (*Allium* subgenus *Melanocrommyum*). **Systematic Botany**, v. 37, n. 1, p. 96–104, 1 mar. 2012.
- HARVEY, P. H.; PAGEL, M. D. **The Comparative Method in Evolutionary Biology**. Edición: New ed. Oxford ; New York: OUP Oxford, 1991.
- HAWKINS, J. S. et al. Differential lineage-specific amplification of transposable elements is responsible for genome size variation in *Gossypium*. **Genome Research**, v. 16, n. 10, p. 1252–1261, out. 2006.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T. et al. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). **American Journal of Botany**, v. 98, n. 1, p. 44–61, 1 jan. 2011.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T. et al. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. **New Phytologist**, v. 202, n. 4, p. 1382–1397, jun. 2014.
- HERSHKOVITZ, M. A.; ZIMMER, E. A. On the Evolutionary Origins of the Cacti. **Taxon**, v. 46, n. 2, p. 217–232, 1997.
- HULTGREN, K. M. et al. Latitudinal variation in genome size in crustaceans. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 123, n. 2, p. 348–359, 15 jan. 2018.
- HUNT, D.; TAYLOR, N.; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP (EDS.). **The new cactus lexicon**. Milborne Port: dh Books, 2006.
- JAKOB, S. S.; MEISTER, A.; BLATTNER, F. R. The Considerable Genome Size Variation of *Hordeum Species* (Poaceae) Is Linked to Phylogeny, Life Form, Ecology, and Speciation Rates. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, n. 5, p. 860–869, 1 maio 2004.
- JARA-ARANCIO, P. et al. Phylogenetic perspectives on biome shifts in *Leucocoryne* (Alliaceae) in relation to climatic niche evolution in western South America. **Journal of Biogeography**, v. 41, n. 2, p. 328–338, fev. 2014.
- JOHNSTON, J. S. et al. Reference standards for determination of DNA content of plant nuclei. **American Journal of Botany**, v. 86, n. 5, p. 609–613, 1999.
- JORDAN, G. J. et al. Environmental adaptation in stomatal size independent of the effects of genome size. **The New Phytologist**, v. 205, n. 2, p. 608–617, jan. 2015.
- JOUBÈS, J.; CHEVALIER, C. Endoreduplication in higher plants. In: INZÉ, D. (Ed.). **The Plant Cell Cycle**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000. p. 191–201.
- JUDD, W. S. et al. **Plant Systematics: A Phylogenetic Approach**. Fourth Edition ed. Oxford, New York: Oxford University Press, 2015.
- KANAZAWA, A. et al. Adaptive Evolution Involving Gene Duplication and Insertion of a Novel Ty1/copia-Like Retrotransposon in Soybean. **Journal of Molecular Evolution**, v. 69, n. 2, p. 164–175, 1 ago. 2009.

- KANG, M. et al. Adaptive and nonadaptive genome size evolution in Karst endemic flora of China. **New Phytologist**, v. 202, n. 4, p. 1371–1381, 2014.
- KEARSE, M. et al. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 12, p. 1647–1649, 15 jun. 2012.
- KELLY, L. J. et al. Analysis of the giant genomes of *Fritillaria* (Liliaceae) indicates that a lack of DNA removal characterizes extreme expansions in genome size. **New Phytologist**, v. 208, n. 2, p. 596–607, out. 2015.
- KNIGHT, C. A.; ACKERLY, D. D. Variation in nuclear DNA content across environmental gradients: a quantile regression analysis. **Ecology Letters**, v. 5, n. 1, p. 66–76, 2002.
- KNIGHT, C. A.; BEAULIEU, J. M. Genome Size Scaling through Phenotype Space. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 759–766, abr. 2008.
- KNIGHT, C. A.; MOLINARI, N. A.; PETROV, D. A. The Large Genome Constraint Hypothesis: Evolution, Ecology and Phenotype. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 177–190, 1 jan. 2005.
- KOROTKOVA, N.; BORSCH, T.; ARIAS, S. A phylogenetic framework for the Hylocereeae (Cactaceae) and implications for the circumscription of the genera. **Phytotaxa**, v. 327, n. 1, p. 1, 3 nov. 2017.
- KUO, C.-H.; MORAN, N. A.; OCHMAN, H. The consequences of genetic drift for bacterial genome complexity. **Genome Research**, v. 19, n. 8, p. 1450–1454, ago. 2009.
- LAS PEÑAS, M. L. et al. Classical and molecular cytogenetics and DNA content in *Maihuenia* and *Pereskia* (Cactaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 300, n. 3, p. 549–558, mar. 2014.
- LAS PEÑAS, M. L. et al. Taxonomic and cytogenetic studies in *Opuntia* ser. *Armatae* (Cactaceae). **Botany**, v. 95, n. 2, p. 101–120, fev. 2017.
- LAS PEÑAS, M. L.; KIESLING, R.; BERNARDELLO, G. Phylogenetic reconstruction of the genus *Tephrocactus* (Cactaceae) based on molecular, morphological, and cytogenetical data. **TAXON**, v. 68, n. 4, p. 714–730, ago. 2019.
- LEITCH, I. J. et al. **Angiosperm DNA C-values database (release 9.0, Apr 2019)** <https://cvalues.science.kew.org/>. Disponível em: <<https://cvalues.science.kew.org/search/angiosperm>>. Acesso em: 2 jul. 2019.
- LEVIN, D. A. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford ; New York: Oxford University Press, 2002.
- LIN, R. et al. Transposase-Derived Transcription Factors Regulate Light Signaling in *Arabidopsis*. **Science (New York, N.Y.)**, v. 318, n. 5854, p. 1302–1305, 23 nov. 2007.
- LIU, B. et al. Genetic Redundancy in Soybean Photoresponses Associated With Duplication of the Phytochrome A Gene. **Genetics**, v. 180, n. 2, p. 995–1007, 1 out. 2008.

LÜTTGE, U. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). **Annals of Botany**, v. 93, n. 6, p. 629–652, jun. 2004.

LÜTTGE, U. **Physiological ecology of tropical plants**. 2nd ed ed. Berlin: Springer, 2008.

LYNCH, M.; CONERY, J. S. The origins of genome complexity. **Science (New York, N.Y.)**, v. 302, n. 5649, p. 1401–1404, 21 nov. 2003.

LYSAK, M. A. et al. The dynamic ups and downs of genome size evolution in Brassicaceae. **Molecular Biology and Evolution**, v. 26, n. 1, p. 85–98, jan. 2009.

LYU, H. et al. Convergent adaptive evolution in marginal environments: unloading transposable elements as a common strategy among mangrove genomes. **The New Phytologist**, v. 217, n. 1, p. 428–438, jan. 2018.

MAASS, M.; BURGOS, A. Water Dynamics at the Ecosystem Level in Seasonally Dry Tropical Forests. In: DIRZO, R. et al. (Eds.). . **Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation**. Washington, DC: Island Press/Center for Resource Economics, 2011. p. 141–156.

MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.40 <http://mesquiteproject.org>. 2018.

MADLUNG, A. Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. **Heredity**, v. 110, n. 2, p. 99–104, fev. 2013.

MAJURE, L. C. et al. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 5, p. 847–864, maio 2012.

MARCONDES, R. S. Realistic scenarios of missing taxa in phylogenetic comparative methods and their effects on model selection and parameter estimation. **PeerJ**, v. 7, 11 out. 2019.

MARIE, D.; BROWN, S. C. A cytometric exercise in plant DNA histograms, with 2C values for 70 species. **Biology of the Cell**, v. 78, n. 1–2, p. 41–51, 1993.

MAUSETH, J. D. Structure-function relationships in highly modified shoots of cactaceae. **Annals of Botany**, v. 98, n. 5, p. 901–926, nov. 2006.

MENEZES, T. P. et al. Endoreduplication in floral structure, vegetative and fruits of red pitaya with white pulp. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 4, 8 jul. 2016.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees**. 2010 Gateway Computing Environments Workshop (GCE). **Anais...** In: PROCEEDINGS OF THE GATEWAY COMPUTING ENVIRONMENTS WORKSHOP (GCE). New Orleans, LA: IEEE, 14 nov. 2010Disponível em: <<http://www.phylo.org/index.php/>>

MORAES, A. P. et al. Karyotype diversity and genome size variation in Neotropical Maxillariinae orchids. **Plant Biology**, v. 19, n. 2, p. 298–308, mar. 2017.

MOWFORTH, M. A.; GRIME, J. P. Intra-Population Variation in Nuclear DNA Amount, Cell Size and Growth Rate in *Poa annua* L. **Functional Ecology**, v. 3, n. 3, p. 289–295, 1989.

MÜLLER, L.-L. B.; ZOTZ, G.; ALBACH, D. C. Bromeliaceae subfamilies show divergent trends of genome size evolution. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 26 mar. 2019.

NEGRON-ORTIZ, V. Chromosome numbers, nuclear DNA content, and polyploidy in *Consolea* (Cactaceae), an endemic cactus of the Caribbean Islands. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 8, p. 1360–1370, 1 ago. 2007.

NOBEL, P. S. (ED.). **Cacti: biology and uses**. Berkeley: University of California Press, 2002.

NOBEL, P. S. **Environmental biology of agaves and cacti**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.

NOBEL, P. S. **Physicochemical and environmental plant physiology**. 4. ed ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2009.

NOBEL, P. S.; BARRERA, E. High Temperatures and Net CO₂ Uptake, Growth, and Stem Damage for the Hemiepiphytic Cactus *Hylocereus undatus*. **Biotropica**, v. 34, n. 2, p. 225–231, jun. 2002.

NODAL-MORENO, S. A. et al. Análisis del tamaño del genoma, poliploidía y patrón endopoliploide en poblaciones de *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae) en Tamaulipas, México. **Acta Universitaria**, v. 29, p. 1–11, 16 out. 2019.

NYFFELER, R. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/ matK and trnL-trnF sequences. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 2, p. 312–326, 2002.

NYFFELER, R. The closest relatives of cacti: insights from phylogenetic analyses of chloroplast and mitochondrial sequences with special emphasis on relationships in the tribe Anacampseroteae. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 1, p. 89–101, jan. 2007.

OBERMAYER, R. et al. Nuclear DNA C-values in 30 Species Double the Familial Representation in Pteridophytes. **Annals of Botany**, v. 90, n. 2, p. 209–217, 1 ago. 2002.

O'ROURKE, N.; HATCHER, L.; STEPANSKI, E. J. **A step-by-step approach to using SAS® for univariate & multivariate statistics**. 2. ed., 1. print ed. Cary, NC: SAS Inst. [u.a.], 2005.

PALOMINO, G. et al. Nuclear genome size, ploidy level and endopolyploidy pattern in six species of *Opuntia* (Cactaceae). **Caryologia**, v. 69, n. 1, p. 82–89, 2 jan. 2016.

PARADIS, E. **Analysis of Phylogenetics and Evolution with R**. New York, NY: Springer New York, 2012.

PARADIS, E. et al. **Package ‘ape’: Analyses of Phylogenetics and Evolution**. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/ape/ape.pdf>>. Acesso em: 30 set. 2017.

PARK, S.-Y.; YEUNG, E. C.; PAEK, K.-Y. Endoreduplication in *Phalaenopsis* is affected by light quality from light-emitting diodes during somatic embryogenesis. **Plant Biotechnology Reports**, v. 4, n. 4, p. 303–309, 1 out. 2010.

PELLICER, J. et al. Genome Size Diversity and Its Impact on the Evolution of Land Plants. **Genes**, v. 9, n. 2, 14 fev. 2018.

PINKAVA, D. J.; REBMAN, J. P.; BAKER, M. A. Chromosome Numbers in Some Cacti of Western North America-VII. **Haseltonia**, v. 6, p. 32–41, 1998.

PUTTICK, M. N.; CLARK, J.; DONOGHUE, P. C. J. Size is not everything: rates of genome size evolution, not C-value, correlate with speciation in angiosperms. **Proceedings. Biological Sciences**, v. 282, n. 1820, p. 20152289, 7 dez. 2015.

QGIS DEVELOPMENT TEAM. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. 2014.

QIU, F. et al. Phylogenetic trends and environmental correlates of nuclear genome size variation in *Helianthus* sunflowers. **New Phytologist**, v. 221, n. 3, p. 1609–1618, fev. 2019.

R CORE TEAM. R: a language and environment for statistical computing, version 3.6.2. **R Foundation for Statistical Computing, Vienna**, 2019.

RAMBAUT, A. et al. **TRACER v1.6**. [s.l: s.n.].

RAMBAUT, A. **FigTree v1.4.2**. [s.l: s.n.].

RAYBURN, A. L. et al. C-Band Heterochromatin and Dna Content in *Zea mays*. **American Journal of Botany**, v. 72, n. 10, p. 1610–1617, 1985.

REBMAN, J. P.; PINKAVA, D. J. Opuntia Cacti of North America: An Overview. **The Florida Entomologist**, v. 84, n. 4, p. 474, dez. 2001.

REEVES, G. et al. Genome Size is Negatively Correlated with Altitude in Natural Populations of *Dactylis glomerata*. **Annals of Botany**, v. 82, n. suppl_1, p. 99–105, 1 dez. 1998.

RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematic Biology**, v. 61, n. 3, p. 539–542, maio 2012.

SADER, M. A. et al. The role of chromosome changes in the diversification of Passiflora L. (Passifloraceae). **Systematics and Biodiversity**, v. 17, n. 1, p. 7–21, 2 jan. 2019.

SCHMUTHS, H. et al. Genome Size Variation among Accessions of *Arabidopsis thaliana*. **Annals of Botany**, v. 93, n. 3, p. 317–321, 1 mar. 2004.

SEGURA, S. et al. Genome sizes and ploidy levels in Mexican cactus pear species *Opuntia* (Tourn.) Mill. series Streptacanthae Britton et Rose, Leucotrichae DC., Heliabravoanae Scheinvar and Robustae Britton et Rose. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 5, p. 1033–1041, 28 jun. 2007.

SILVA, R. G. N. **Genome size of invasive and non-invasive succulent species**. Master's Thesis—Coimbra: Universidade de Coimbra, 2015.

SIMONIN, K. A.; RODDY, A. B. Genome downsizing, physiological novelty, and the global dominance of flowering plants. **PLOS Biology**, v. 16, n. 1, p. e2003706, 11 jan. 2018.

ŠMARDA, P.; BUREŠ, P. Intraspecific DNA Content Variability in *Festuca pallens* on Different Geographical Scales and Ploidy Levels. **Annals of Botany**, v. 98, n. 3, p. 665–678, 1 set. 2006.

SOLTIS, D. E. et al. Polyploidy and angiosperm diversification. **American Journal of Botany**, v. 96, n. 1, p. 336–348, 1 jan. 2009.

SOUZA, G. et al. Do tropical plants have smaller genomes? Correlation between genome size and climatic variables in the Caesalpinia Group (Caesalpinioideae, Leguminosae). **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 38, p. 13–23, 1 jun. 2019.

SOUZA, G.; CROSA, O.; GUERRA, M. Karyological, morphological, and phylogenetic diversification in *Leucocoryne* Lindl (Allioideae, Amaryllidaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 301, n. 8, p. 2013–2023, out. 2015.

STEBBINS, G. L. Chromosomal Variation and Evolution. **Science**, v. 152, n. 3728, p. 1463–1469, 10 jun. 1966.

STUPPY, W. Seed characters and the generic classification of the Opuntioideae (Cactaceae). **Succulent Plant Research**, v. 6, p. 25–58, 1 jan. 2002.

SWIFT, H. The Constancy of Desoxyribose Nucleic Acid in Plant Nuclei. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 36, n. 11, p. 643–654, 1 nov. 1950.

TEL-ZUR, N. et al. Phenotypic and genomic characterization of vine cactus collection (Cactaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, n. 7, p. 1075–1085, out. 2011.

TRÁVNÍČEK, P. et al. Diversity in genome size and GC content shows adaptive potential in orchids and is closely linked to partial endoreplication, plant life-history traits and climatic conditions. **The New Phytologist**, 19 jun. 2019.

VALVERDE, T. et al. Population dynamics of *Mammillaria magnimamma* Haworth. (Cactaceae) in a lava-field in central Mexico. **Plant Ecology**, v. 170, n. 2, p. 167–184, 1 fev. 2004.

VAN-LUME, B. et al. Heterochromatic and cytomolecular diversification in the Caesalpinia group (Leguminosae): Relationships between phylogenetic and cytogeographical data. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 29, p. 51–63, 1 dez. 2017.

VESELÝ, P. et al. Genome size and DNA base composition of geophytes: the mirror of phenology and ecology? **Annals of Botany**, v. 109, n. 1, p. 65–75, jan. 2012.

WANG, J.; LIU, J.; KANG, M. Quantitative testing of the methodology for genome size estimation in plants using flow cytometry: a case study of the *Primulina* genus. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 19 maio 2015.

WANG, L. et al. Genome Size Variation within Species of Chinese Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) and Its Wild Ancestor Sour Jujube (*Z. acidojujuba* Cheng et Liu). **Forests**, v. 10, n. 5, p. 460, maio 2019.

WANG, W.; KERSTETTER, R. A.; MICHAEL, T. P. **Evolution of Genome Size in Duckweeds (Lemnaceae)**. Research article. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jb/2011/570319/abs/>>. Acesso em: 1 jul. 2019.

WEISS-SCHNEEWEISS, H. et al. Evolutionary Consequences, Constraints and Potential of Polyploidy in Plants. **Cytogenetic and genome research**, v. 140, n. 0, 2013.

WENIGER, D. **Cacti of the Southwest: Texas, New Mexico, Oklahoma, Arkansas, and Louisiana**. Austin: University of Texas press, 1969.

ZIZKA, A. et al. COORDINATECLEANER : Standardized cleaning of occurrence records from biological collection databases. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 10, n. 5, p. 744–751, maio 2019.

ZONNEVELD, B. J. M.; LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. First Nuclear DNA Amounts in more than 300 Angiosperms. **Annals of Botany**, v. 96, n. 2, p. 229–244, 1 ago. 2005.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Correlation Matrix

A correlation matrix was constructed using Pearson's linear regression for selecting uncorrelated environmental variables. Variables with a correlation coefficient above 0.7 (70%) were excluded and only one of them maintained for posterior analyses.

Correlation circle

Environmental variables and the principal components (PC) are plotted in a PCA using the correlation between them as the coordinates (ABDI; WILLIAMS, 2010).

Variables were selected according to biological significance of their information and considering the following directions: a) positively correlated variables are grouped together; b) negatively correlated variables are positioned on opposite sides of the plot origin (opposed quadrants); c) the distance between variables and the origin measures the quality of the variables on the factor map; e) variables that are away from the origin are well represented on the factor map; f) a high $\cos^2$ indicates a good representation of the variable on the principal component (in this case the variable is positioned close to the circumference of the correlation circle); g) a low $\cos^2$ indicates that the variable is not perfectly represented by the PCs (in this case the variable is close to the center of the circle); h) the $\cos^2$ values are used to estimate the quality of the representation. The closer a variable is to the circle of correlations, the better its representation on the factor map (and the more important it is to interpret these components); i) variables that are closed to the centre of the plot are less important for the first components. However, variable Bio15 (precipitation seasonality) was included in posterior analysis due to the biological importance of the information provided by it (Fig. S1.C)

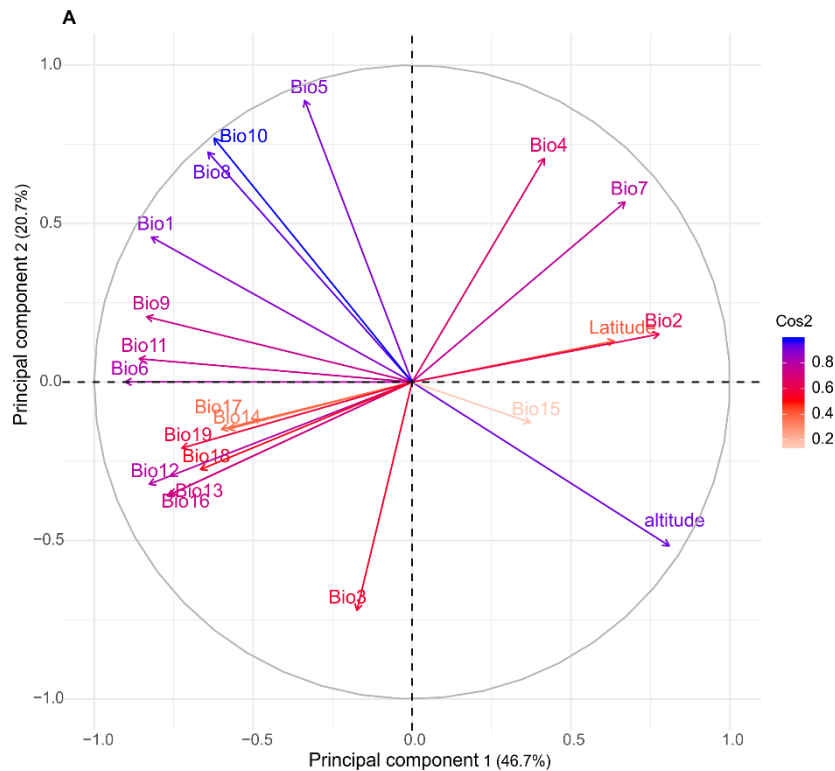


Figura S1.A. Correlation circle.

Scree plot

Eigenvalues from a PCA are plotted and ordered from largest to the smallest. The number of component is determined at the point, beyond which the remaining eigenvalues are all relatively small and of comparable size (JOLLIFE, 2002, PERES-NETO et al., 2005). The *eigenvalues* measure the amount of variation retained by each principal component. We examine the eigenvalues to determine the number of principal components to be considered. The eigenvalues and the proportion of variances retained by the principal components (PCs) was extracted using the function `get_eigenvalue()` in *factoextra* package and are listed in Table S4.

According to the cumulative explained variance, the first three principal components (84.8%) were considered for variable selection of the environmental parameters. The scree plot was produced using the function `fviz_screplot()` in *factoextra* package, implemented on R.

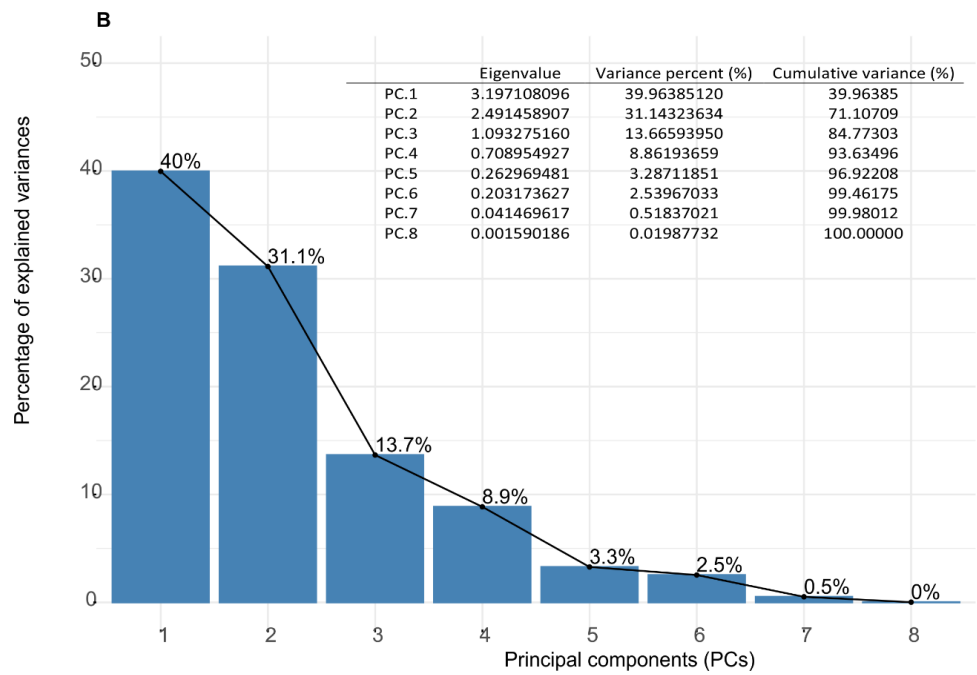


Figure S1.B: Scree plot of the principal components from a PCA using all environmental variables (Bio1-Bio19, latitude and altitude). Scores are offered in the legend.

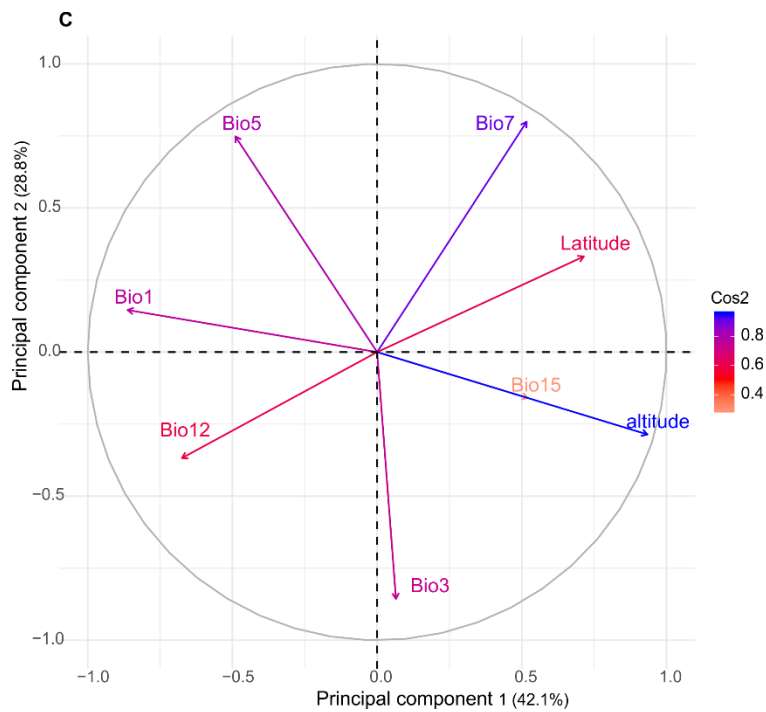


Figure S1.C shows a PCA plot displaying the environmental variables selected for analysis (Bio1, Bio3, Bio5, Bio7, Bio12, Bio 15, Latitude and altitude) after considering all correlations between them above mentioned (Pearson’s correlation matrix, correlation circle, scree plot). These variables served as input for a PCA which is represented in Figure 5. See text for additional information about Figure 5 and its interpretation.

References

ABDI, H.; WILLIAMS, L. J. Principal component analysis. **WIREs Computational Statistics**, v. 2, n. 4, p. 433–459, 2010.

JOLLIFFE, I. T. **Principal Component Analysis**. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 2002.

PERES-NETO, P. R.; JACKSON, D. A.; SOMERS, K. M. How many principal components? stopping rules for determining the number of non-trivial axes revisited. **Computational Statistics & Data Analysis**, v. 49, n. 4, p. 974–997, 15 jun. 2005.

Information available in <http://www.sthda.com/english/articles/31-principal-component-methods-in-r-practical-guide/112-pca-principal-component-analysis-essentials/>

Table S1. Species of the different genera of Cactaceae showing nuclear and plastid regions used for phylogenetic reconstruction (GenBank accession numbers, also for outgroups *Ceraria fruticulosa*, *Grahamia bracteata* and *Talinum paniculatum*).

	Genetic markers						
	Nuclear	Plastid					
	ITS	matK	psbA-trnH	rpl16 gene	phyC	trnL-trnF	atpB-rbcL
<i>Ceraria fruticulosa</i> H.Pearson & Stephens	—	AY875371	—	KM261897	—	—	—
<i>Grahamia bracteata</i> Gillies ex Hook. & Arn.	L78028	AY015273	—	—	—	—	—
<i>Talinum paniculatum</i> (Jacq.) Gaertn.	—	NC_037748 #	—	AY851610	AY875316	NC_037748 #	NC_037748 #
<i>Hylocereus</i> (A.Berger) Britton & Rose (Cactoideae)							
<i>H. costaricensis</i> (F.A.C.Weber) Britton & Rose	JX289634.1	LT745675.1	—	LT745560	JX627698.1	LT745442.1	—
<i>H. esculintlensis</i> Kimmach	JX289609.1	—	—	—	JX627699.1	—	—
<i>H. guatemalensis</i> (Eichlam) Britton & Rose *	JX289596.1	—	—	—	JX627700.1	—	—
<i>H. megalanthus</i> (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer	JX289680.1	LT745678.1	—	LT745563	JX627701.1	LT745445.1	—
<i>H. monacanthus</i> (Lem.) Britton & Rose	JX289659.1	LT745681.1	—	LT745571	JX627706.1	LT745448.1	—
<i>H. ocamponis</i> (Salm-Dyck) Britton & Rose	JX289594.1	LT745687	KU597975	KU598027	JX627709.1	KU598080.1	—
<i>H. triangularis</i> (syn.H trigonus) (L.) Britton & Rose **	JX289604.1	LT745694.1	—	LT745578	JX627710.1	LT745461.1	—
<i>H. undatus</i> (Haw.) Britton & Rose†	JX289605.1	LT745695.1	—	DQ100010	JX627712.1	LT745462.1	—
<i>Mammillaria</i> Haw. (Cactoideae)							
<i>M. albilanata</i> Backeb.	—	FN997142.1	AY545347.1	AY545239.1	—	—	—
<i>M. backebergiana</i> F.G. Buchenau†	AJ845118.2	FN997319.1	AY545351.1	AY545242.1	—	AJ583213	—
<i>M. bocasana</i> Poselger	—	FN997250.1	AY545355.1	—	—	—	—
<i>M. bombycina</i> Quehl	—	FN997234.1	AY545356.1	AY545246.1	—	—	—
<i>M. carnea</i> Zucc. ex Pfeiff.	AJ890357.2	FN997360.1	AY545363.1	AY545253.1	—	AJ583217	—
<i>M. decipiens</i> Scheidw.	—	FN997324.1	AY545369.1	AY545255.1	—	—	—
<i>M. dixanthocentron</i> Backeb.	—	FN997143.1	AY545370.1	AY545256.1	—	—	—
<i>M. duoformis</i> R.T. Craig & E.Y. Dawson	—	FN997320.1	AY545371.1	AY545257.1	—	—	—
<i>M. elongata</i> DC.	AJ845121.2	FN997474.1	AY545373.1	AY545258.1	—	AJ583224	—
<i>M. geminispina</i> Haw.	—	FN997280.1	AY545379.1	AY545262.1	—	HM041296	—
<i>M. guelzowiana</i> Werderm.	—	FN997241.1	AY545384.1	AY545267.1	—	—	—

<i>M. haageana</i> Pfeiff.	—	FN997493.1	AY545385.1	AY545268.1	—	AY015289	—
<i>M. magnifica</i> F.G. Buchenau	—	FN997404.1	AY545401.1	AY545283.1	—	—	—
<i>M. magnimamma</i> Haw.	—	FN997573.1	AY545402.1	HM041451.1	—	HM041297	—
<i>M. microhelix</i> Werderm.	—	FN997243.1	AY545411.1	AY545291.1	—	—	—
<i>M. mystax</i> Mart.	—	FN997492.1	AY545414.1	AY545294.1	—	—	—
<i>M. parkinsonii</i> Ehrenb.	—	FN997235.1	AY545419.1	AY545298.1	—	—	—
<i>M. picta</i> Meinsh.	—	FN997130.1	AY545427.1	AY545306.1	—	HM041298	—
<i>M. plumosa</i> F.A.C. Weber	AJ829730.2	FN997322.1	AY545428.1	AY545307.1	—	AJ583230	—
<i>M. rekoi</i> Vaupel	—	FN997300.1	AY545435.1	AY545314.1	—	—	—
<i>M. rhodantha</i> Link & Otto	—	FN997210.1	AY545437.1	AY545316.1	—	—	—
<i>M. schwarzii</i> Shurly†	—	FN997184.1	AY545439.1	—	—	—	—
<i>M. spinosissima</i> Lem.	—	FN997318.1	AY545443.1	AY545321.1	—	—	—
<i>M. supertexta</i> Mart. ex Pfeiff.	—	FN997397.1	AY545445.1	AY545323.1	—	—	—
<i>Pereskia</i> Mill. (Pereskioideae)							
<i>P. bleo</i> (Kunth) DC.	—	AY875359.1	AY851574	AY851600.1	AY875289	—	—
<i>P. aculeata</i> Mill.	JF508526	AY875355.1	AY875323.1	AY851589.1	EU926736	HM041338	—
<i>P. bahiensis</i> Gürke	—	AY875351.1	AY851579	AY851605.1	—	—	—
<i>P. grandifolia</i> Haworth var. <i>grandifolia</i> ***	—	AY875362.1	AY851578.1	AY851604	AY875298	KM261954	—
<i>P. nemorosa</i> Rojas Acosta	—	AY875350.1	AY851575.1	AY851601	AY875296	—	—
<i>P. sacharosa</i> Griseb.	—	AY875363.1	AY851576	AY851602	AY875299	—	—
<i>Opuntia</i> Mill. (Opuntioideae)							
<i>O. acaulis</i> Ekman & Werderm.	JF786902.1	JF786738.1	—	—	—	JF712710.1	JF787177.1
<i>O. chlorotica</i> Engelm. & J.M. Bigelow	JF786924.1	JF786763.1	—	—	—	JF712735.1	JF787201.1
<i>O. dillenii</i> (Ker Gawl.) Haw.†	JF787010.1	JF786854.1	—	—	AY875302	JF712827.1	JF787289.1
<i>O. elata</i> Link & Otto ex Salm-Dyck	JF786934.1	JF786774.1	—	—	—	JF712746.1	JF787211.1
<i>O. engelmannii</i> Salm-Dyck ex Engelm.	JF786937.1	JF786777.1	—	—	—	JF712750.1	JF787215.1
<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill.†	JF786944.1	JF786784.1	EU930418.1	—	—	JF712757.1	JF787222.1
<i>O. fuliginosa</i> Griffiths	JF786946.1	JF786787.1	—	—	—	JF712759.1	JF787224.1

<i>O. humifusa</i> (Raf.) Raf.	JF786949.1	JF786791.1	GQ248357.1	—	—	JF712762.1	—
<i>O. lasiacantha</i> Pfeiff.	EU837061.1	HM041740.1	EU930408.1	HM041476	—	HM041321.1	—
<i>O. leucotricha</i> DC.	JF786953.1	JF786795.1	—	—	—	JF712767.1	—
<i>O. macrorhiza</i> Engelm.	JF786960.1	JF786802.1	—	—	—	JF712774.1	JF787240.1
<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck	JF787098.1	JF786806.1	EU930415.1	—	—	JF712778.1	JF787243.1
<i>O. microdasys</i> (Lehm.) Pfeiff.	JF786966.1	JF786809.1	—	HM041480	—	JF712781.1	JF787246.1
<i>O. phaeacantha</i> Engelm.	JF786974.1	JF786817.1	KC196838.1	—	HQ621110	JF712789.1	JF787254.1
<i>O. robusta</i> J.C. Wendl.	JF787119.1	JF786838.1	—	—	—	JF712811.1	JF787275.1
<i>O. stricta</i> (Haw.) Haw.	HQ872558.1	JF786853.1	—	—	—	JF712826.1	JF787288.1
<i>O. tomentosa</i> Salm-Dyck	JF787067.1	JF786861.1	—	—	—	JF712834.1	JF787298.1

*Synonym of *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose

***Hylocereus trigonus* (Haw.) Saff.

*** Synonym of *Pereskia grandifolia* Haw.

† Invasive plants

Sequence extracted from a complete genome (accession NC_037748).

Table S2. Pearson regression between genome size and environmental variables, latitude and altitude of five studied genera (*Hylocereus*, *Mammillaria*, *Pereskia*, *Opuntia* and *Melocactus*). Correlations were performed using 2C-values log10 transformed. Significant positive values are in normal font, negatives are in bold, grey coloured mean for non-significant values.

Environmental variables	<i>Hylocereus</i> (2C-LOG)			<i>Mammillaria</i> (2C-LOG)			<i>Pereskia</i> (2C-LOG)			<i>Opuntia</i> (2C-LOG)			<i>Melocactus</i> (2C-LOG)		
	Slope	R ²	p	Slope	R ²	p	Slope	R ²	p	Slope	R ²	p	Slope	R ²	p
Annual Mean Temperature (Bio1)	0.11421	0.0026	0.2292	-0.133	0.02279	2.75E-07	0.49808	0.1492	< 2.2e-16	0.12619	0.0097	2.37E-12	-0.7956	0.08092	4.92E-05
Mean Diurnal Range (Bio2)	-0.1131	0.0237	0.02316	0.09999	0.00483	0.01181	0.034	0.00022	0.2936	0.41284	0.06042	< 2.2e-16	0.51396	0.1794	1.03E-09
Isothermality (Bio3)	0.5374	0.116	2.24E-06	-0.2153	0.00972	0.0006035	0.34477	0.1444	< 2.2e-16	0.37437	0.1369	< 2.2e-16	0.2531	0.00771	0.1202
Temperature Seasonality (Bio4)	-0.09692	0.1562	3.39E-08	0.09428	0.02409	1.29E-07	-0.0713	0.1008	1.10E-12	-0.173	0.1145	< 2.2e-16	0.06727	-0.0018	0.4149
Max Temperature of Warmest Month (Bio5)	-0.184	0.00658	0.1435	-0.1062	0.00793	0.001768	0.44692	0.05487	1.67E-07	-0.4209	0.02968	< 2.2e-16	-0.169	-0.0024	0.4534
Min Temperature of Coldest Month (Bio6)	0.1032	0.03602	0.00667	-0.0557	0.02921	6.47E-09	0.14988	0.103	6.07E-13	0.16236	0.03462	< 2.2e-16	-0.7345	0.2064	4.40E-11
Temperature Annual Range (Bio7)	0.15289	0.06868	0.00026	0.15741	0.01589	1.56E-05	-0.102	0.03413	3.31E-05	-0.3034	0.06633	< 2.2e-16	0.857	0.2583	7.95E-14
Mean Temperature of Wettest Quarter (Bio8)	-0.0232	-0.0055	0.8257	-0.1178	0.01604	1.43E-05	0.41813	0.1007	1.11E-12	0.05414	0.00381	8.41E-06	-0.3577	0.00876	0.1063
Mean Temperature of Driest Quarter (Bio9)	0.17365	0.019	0.03762	-0.1562	0.04297	2.06E-12	0.31548	0.1303	3.91E-16	0.07057	0.01239	2.64E-15	-0.8649	0.1748	1.73E-09
Mean Temperature of Warmest Quarter (Bio10)	-0.0259	-0.0054	0.7978	-0.1132	0.01502	2.60E-05	0.38145	0.05812	7.27E-08	-0.4109	0.04961	< 2.2e-16	-0.8393	0.08157	4.59E-05
Mean Temperature of Coldest Quarter (Bio11)	0.1875	0.03068	0.01141	-0.1494	0.03739	5.43E-11	0.32667	0.1478	< 2.2e-16	0.13327	0.04814	< 2.2e-16	-0.703	0.08683	2.64E-05
Annual Precipitation (Bio12)	0.07085	0.06561	0.00035	-0.1016	0.04504	6.12E-13	-0.0669	0.0461	1.57E-06	-0.0549	0.00791	2.29E-10	-0.4463	0.3964	< 2.2e-16
Precipitation of Wettest Month (Bio13)	0.04956	0.01371	0.06565	-0.0941	0.04544	4.84E-13	-0.0386	0.00911	0.02161	0.0729	0.01442	< 2.2e-16	-0.3541	0.2973	5.17E-16
Precipitation of Driest Month (Bio14)	0.01492	0.03995	0.0045	0.00788	-0.0004	0.4452	-0.0416	0.1567	< 2.2e-16	-0.0518	0.05294	< 2.2e-16	-0.0307	0.07101	0.0001394
Precipitation Seasonality (Bio15)	-0.16428	0.2349	5.61E-12	-0.2105	0.02787	1.42E-08	0.07447	0.1054	3.22E-13	0.19698	0.1472	< 2.2e-16	0.03686	-0.002	0.4304
Precipitation of Wettest Quarter (Bio16)	0.05058	0.0169	0.04683	-0.0898	0.04446	8.61E-13	-0.0348	0.00693	0.03931	0.06891	0.01328	2.65E-16	-0.3635	0.3157	< 2.2e-16
Precipitation of Driest Quarter (Bio17)	0.01905	0.04625	0.00241	0.01762	0.00156	0.0988	-0.0411	0.1385	< 2.2e-16	-0.0986	0.1021	< 2.2e-16	-0.0788	0.145	4.92E-08
Precipitation of Warmest Quarter (Bio18)	0.07617	0.04841	0.00194	-0.1362	0.07422	2.20E-16	-0.0749	0.04883	7.82E-07	0.00316	-0.0002	0.6375	-0.0425	0.00084	0.2837
Precipitation of Coldest Quarter (Bio19)	0.01774	0.03452	0.00775	-0.0072	-0.0005	0.496	-0.0282	0.06631	8.87E-09	-0.1382	0.1558	< 2.2e-16	-0.0711	0.1905	2.86E-10
Latitude	-0.09627	0.2824	1.95E-14	0.42952	0.07292	< 2.2e-16	-0.096	0.1034	5.50E-13	-0.4049	0.1277	< 2.2e-16	-0.0452	-0.003	0.5057
Altitude	-0.0003	-0.0057	0.9645	0.04199	0.01756	5.85E-06	0.00744	0.00419	0.08566	0.05389	0.0865	< 2.2e-16	0.15527	0.4996	< 2.2e-16

Table S3. Table contents output scores of PCA (principal component analysis) components from each environmental parameter used in Figure 5 assembly. Explained variation by each component, proportion of variance explained and cumulative proportion are showed in decimal values referring to percentages.

Environmental variables	Explained variation by component							
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
Annual Mean Temperature (Bio1)	-0.51	0.14	-0.3	0.03	-0.28	0.08	-0.39	0.63
Isothermality (Bio3)	-0.07	-0.56	-0.24	0.16	-0.49	-0.5	0.33	0
Max Temperature of Warmest Month (Bio5)	-0.27	0.5	-0.31	0.12	-0.12	-0.34	-0.21	-0.63
Temperature Annual Range (Bio7)	0.32	0.49	0	0.08	0.19	-0.59	0.25	0.46
Annual Precipitation (Bio12)	-0.36	-0.21	0.2	0.7	0.52	-0.13	-0.08	0.02
Precipitation Seasonality (Bio15)	0.19	-0.16	-0.84	-0.02	0.46	0.16	0.08	0.01
Altitude	0.5	-0.24	0.02	0.07	-0.03	-0.26	-0.78	0
Latitude	0.38	0.23	-0.1	0.68	-0.39	0.41	0.11	0.01
Proportion of Variance	0.4	0.31	0.14	0.09	0.03	0.03	0.01	0
Cumulative Proportion	0.4	0.71	0.85	0.94	0.97	0.99	1	1
Standard deviation	1.79	1.58	1.05	0.84	0.51	0.45	0.2	0.04

4 CONCLUSÕES

- Diferentes tecidos de *Melocactus* apresentam diferentes níveis de endorreduplicação. Assim, o mais adequado para se obter picos 2C e com menor coeficiente de variação é utilizar o tecido radicular.
- Em *Melocactus* o tamanho do genoma variou 2,36-vezes, de $2C = 3,1$ pg em *M. violaceus subsp. margaritaceus* até $2C = 7,31$ pg em *M. paucispinus*.
- Na análise dos gêneros *Hylocereus*, *Mammillaria*, *Pereskia* e *Opuntia*, o tamanho do genoma não mostrou sinal filogenético significativo, o que significa que a distribuição da variação do conteúdo de DNA não é correlacionada com as relações filogenéticas.
- As relações entre tamanho de genoma e variáveis ambientais em Cactaceae revelam padrões complexos, dependente do gênero estudado e das suas condições ecológicas.
- Os gêneros que apresentaram correlação significativa do tamanho do genoma com variáveis ambientais (*Hylocereus* e *Mammillaria*) podem ser discriminados de acordo com o ambiente, sendo identificados tendências diferentes para cactos de ambientes áridos (*Mammillaria*) e de ambientes úmidos/sub-úmidos (*Hylocereus*).
- Em *Mammillaria* se observa uma correlação positiva entre 2C e latitude, assim como reportado pros diversos outros grupos de plantas.
- Contrariamente, em *Hylocereus*, de ambientes mais húmidos, é observada uma correlação negativa entre 2C e latitude, com espécies de latitudes equatoriais que apresentam tamanhos do genoma maiores do que aquelas de latitudes temperadas.
- Os padrões observados em *Hylocereus* podem estar relacionados a “*biome shift*”, que está vinculado com variabilidade de caracteres genômicos em plantas que mudaram para ambientes com características ecológicas diferentes.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, E. F. **The cactus family**. Portland, Or: Timber Press, 2001.

APPLEQUIST, W. L.; WALLACE, R. S. Deletions in the plastid trn T- trn L intergenic spacer define clades within Cactaceae subfamily Cactoideae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 231, n. 1–4, p. 153–162, 1 mar. 2002.

ARAKAKI, M. et al. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 20, p. 8379–8384, 17 maio 2011.

ASSIS, J. G. A. et al. Chromosome numbers in Brazilian *Melocactus* (Cactaceae). **Bradleya**, v. 21, n. 21, p. 1–6, ago. 2003.

AVDULOW, N. P. **Karyo-systematische untersuchung der Familie Gramineen**. Leningrad: [s.n.].

BAINARD, J. D. et al. A multivariate analysis of variation in genome size and endoreduplication in angiosperms reveals strong phylogenetic signal and association with phenotypic traits. **New Phytologist**, v. 196, n. 4, p. 1240–1250, dez. 2012.

BARTHLOTT, W.; HUNT, D. R. Cactaceae. In: KUBITZKI, K.; ROHWER, J. G.; BITTRICH, V. (Eds.). **Flowering Plants · Dicotyledons**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1993. p. 161–197.

BASAK, S. et al. Genome Size Unaffected by Variation in Morphological Traits, Temperature, and Precipitation in Turnip. **Applied Sciences**, v. 9, n. 2, p. 253, 11 jan. 2019.

BAUK, K. et al. Contenido de ADN y patrón de genes ribosomales en el género monotípico *Stetsonia* (Cactaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 51, n. 2, p. 323, 15 jun. 2016.

BENNETT, M. D.; BHANDOL, P.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA Amounts in Angiosperms and their Modern Uses—807 New Estimates. **Annals of Botany**, v. 86, n. 4, p. 859–909, 1 out. 2000.

BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Genome Size Evolution in Plants. In: **The Evolution of the Genome**. [s.l.] Elsevier, 2005. p. 89–162.

BENNETZEN, J. L. Mechanisms and rates of genome expansion and contraction in flowering plants. **Genetica**, v. 115, n. 1, p. 29–36, 1 maio 2002.

BENNETZEN, J. L. Transposable elements, gene creation and genome rearrangement in flowering plants. **Current Opinion in Genetics & Development**, Genomes and evolution. v. 15, n. 6, p. 621–627, 1 dez. 2005.

BILINSKI, P. et al. Parallel altitudinal clines reveal trends in adaptive evolution of genome size in *Zea mays*. **PLOS Genetics**, v. 14, n. 5, p. e1007162, 10 maio 2018.

BLOMBERG, S. P.; GARLAND, T.; IVES, A. R. Testing for Phylogenetic Signal in Comparative Data: Behavioral Traits Are More Labile. **Evolution**, v. 57, n. 4, p. 717–745, 2003.

BONNEVIER, J. et al. Physics of a Flow Cytometer. In: GOETZ, C.; HAMMERBECK, C.; BONNEVIER, J. (Eds.). . **Flow Cytometry Basics for the Non-Expert**. Techniques in Life Science and Biomedicine for the Non-Expert. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 13–24.

BONNEVIER, J.; HAMMERBECK, C.; GOETZ, C. Flow Cytometry: Definition, History, and Uses in Biological Research. In: GOETZ, C.; HAMMERBECK, C.; BONNEVIER, J. (Eds.). . **Flow Cytometry Basics for the Non-Expert**. Techniques in Life Science and Biomedicine for the Non-Expert. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 1–11.

BOTTINI, M. C. J. et al. Relationships among Genome Size, Environmental Conditions and Geographical Distribution in Natural Populations of NW Patagonian Species of *Berberis* L. (Berberidaceae). **Annals of Botany**, v. 86, n. 3, p. 565–573, 1 set. 2000.

BRITTEN, R. J.; KOHNE, D. E. Repeated Sequences in DNA. **Science**, v. 161, n. 3841, p. 529–540, 9 ago. 1968.

BUTTERWORTH, C. A.; WALLACE, R. S. Molecular Phylogenetics of the Leafy Cactus Genus *Pereskia* (Cactaceae). **Systematic Botany**, v. 30, n. 4, p. 800–808, 1 out. 2005.

CASTRO, J. P. et al. IAPT/IOPB chromosome data 15. **Taxon**, v. 62, n. 5, p. 1073–1083, 22 out. 2013.

CASTRO, J. P. et al. CMA band variability and physical mapping of 5S and 45S rDNA sites in Brazilian Cactaceae: Pereskioideae and Opuntioideae. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 613–620, jun. 2016.

CECCARELLI, M.; FALISTOCCO, E.; CIONINI, P. G. Variation of genome size and organization within hexaploid *Festuca arundinacea*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 83, n. 3, p. 273–278, 1 jan. 1992.

CLARKSON, J. J.; DODSWORTH, S.; CHASE, M. W. Time-calibrated phylogenetic trees establish a lag between polyploidisation and diversification in *Nicotiana* (Solanaceae). **Plant Systematics and Evolution**, 8 maio 2017.

COSTA, L. et al. Comparative cytomolecular analyses reveal karyotype variability related to biogeographic and species richness patterns in Bombacoideae (Malvaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 303, n. 9, p. 1131–1144, nov. 2017.

COSTICH, D. E.; MEAGHER, T. R.; YURKOW, E. J. A rapid means of sex identification in *Silene latifolia* by use of flow cytometry. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 9, n. 4, p. 359–370, nov. 1991.

DAS, A. B.; MOHANTY, S.; DAS, P. Meiotic Behaviour and Nuclear DNA Variation in Some Species of *Mammillaria* (Cactaceae). **CYTOLOGIA**, v. 62, n. 3, p. 253–257, 1997.

DAS, A. B.; MOHANTY, S.; DAS, P. Interspecific Variation in Nuclear DNA Content and Chromosome Analysis in *Melocactus*. **CYTOLOGIA**, v. 63, n. 3, p. 239–247, 1998.

DAS, A. B.; MOHANTY, S.; DAS, P. Variation in Karyotype and 4C DNA Content in Six Species of Melocactus of the Family Cactaceae. **CYTOLOGIA**, v. 63, n. 1, p. 9–16, 1998.

DEELEY, E. M. An integrating microdensitometer for biological cells. **Journal of Scientific Instruments**, v. 32, n. 7, p. 263–267, jul. 1955.

DEL ANGEL, C. et al. Nuclear genome size and karyotype analysis in Mammillaria species (Cactaceae). **Caryologia**, v. 59, n. 2, p. 177–186, jan. 2006.

DÍEZ, C. M. et al. Genome size variation in wild and cultivated maize along altitudinal gradients. **The New phytologist**, v. 199, n. 1, p. 264–276, jul. 2013.

DOLEŽEL, J. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. **Phytochemical Analysis**, v. 2, n. 4, p. 143–154, set. 1991.

DOLEŽEL, J.; BARTOŠ, J. Plant DNA Flow Cytometry and Estimation of Nuclear Genome Size. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 99–110, 1 jan. 2005.

DOLEŽEL, J.; GREILHUBER, J. Nuclear genome size: Are we getting closer? **Cytometry Part A**, v. 77A, n. 7, p. 635–642, 20 maio 2010.

DU, Y. et al. Genome Size Diversity in Liliaceae Is Correlated with Karyotype and Environmental Traits. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 26 jul. 2017.

DUŠKOVÁ, E. et al. Genome size correlates with growth form, habitat and phylogeny in the Andean genus Lasiocephalus (Asteraceae). **Preslia**, v. 82, n. 1, p. 127–148, 2010.

EDWARDS, E. J.; DONOGHUE, M. J. *Pereskia* and the Origin of the Cactus Life-Form. **The American Naturalist**, v. 167, n. 6, p. 777–793, jun. 2006.

EDWARDS, E. J.; NYFFELER, R.; DONOGHUE, M. J. Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 7, p. 1177–1188, jul. 2005.

EISERT, W. G.; OSTERTAG, R.; NIEMANN, E. G. Simple flow microphotometer for rapid cell population analysis. **The Review of Scientific Instruments**, v. 46, n. 8, p. 1021–1024, ago. 1975.

ESTRADA-CASTILLO, S. et al. Las especies de *Pereskia* (Pereskioideae, Cactaceae) en Colombia. **Caldasia**, v. 41, n. 2, p. 289–300, 1 jul. 2019.

FEDOROFF, N. V. Transposable Elements, Epigenetics, and Genome Evolution. **Science**, v. 338, n. 6108, p. 758–767, 9 nov. 2012.

FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the Comparative Method. **The American Naturalist**, v. 125, n. 1, p. 1–15, jan. 1985.

FEULGEN, R.; ROSSENBECK, H. Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die- darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten. **Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie**, v. 135, n. 5–6, p. 203–248, jan. 1924.

FLEISCHMANN, A. et al. Evolution of genome size and chromosome number in the carnivorous plant genus *Genlisea* (Lentibulariaceae), with a new estimate of the minimum genome size in angiosperms. **Annals of Botany**, v. 114, n. 8, p. 1651–1663, dez. 2014.

GALBRAITH, D. W. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. **Science (New York, N.Y.)**, v. 220, n. 4601, p. 1049–1051, 3 jun. 1983.

GALBRAITH, D. W. et al. Analysis of nuclear DNA content and ploidy in higher plants. **Current Protocols in Cytometry**, v. Chapter 7, p. Unit 7.6, maio 2001.

GOETZ, C.; HAMMERBECK, C. Fluorochrome Choices for Flow Cytometry. In: GOETZ, C.; HAMMERBECK, C.; BONNEVIER, J. (Eds.). **Flow Cytometry Basics for the Non-Expert**. Techniques in Life Science and Biomedicine for the Non-Expert. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 41–51.

GREILHUBER, J. et al. The Origin, Evolution and Proposed Stabilization of the Terms ‘Genome Size’ and ‘C-Value’ to Describe Nuclear DNA Contents. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 255–260, 1 jan. 2005.

GREILHUBER, J. Cytochemistry and C-values: the less-well-known world of nuclear DNA amounts. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 791–804, abr. 2008.

GROTKOPP, E. et al. Evolution of Genome Size in Pines (*Pinus*) and Its Life-History Correlates: Supertree Analyses. **Evolution**, v. 58, n. 8, p. 1705–1729, 2004.

GROVER, C. E.; WENDEL, J. F. **Recent Insights into Mechanisms of Genome Size Change in Plants**. Research article. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jb/2010/382732/>>. Acesso em: 2 jul. 2019.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, n. 3–4, p. 339–350, 2008.

GURUSHIDZE, M.; FUCHS, J.; BLATTNER, F. R. The Evolution of Genome Size Variation in Drumstick Onions (*Allium* subgenus *Melanocrommyum*). **Systematic Botany**, v. 37, n. 1, p. 96–104, 1 mar. 2012.

HANSEN, T. F.; MARTINS, E. P. Translating between microevolutionary process and macroevolutionary patterns: the correlation structure of interspecific data. **Evolution**, v. 50, n. 4, p. 1404–1417, 1 ago. 1996.

HARVEY, P. H.; PAGEL, M. D. **The Comparative Method in Evolutionary Biology**. Edição: New ed. Oxford ; New York: OUP Oxford, 1991.

HAWKINS, J. S. et al. Differential lineage-specific amplification of transposable elements is responsible for genome size variation in *Gossypium*. **Genome Research**, v. 16, n. 10, p. 1252–1261, out. 2006.

HAWKINS, J. S. et al. Phylogenetic determination of the pace of transposable element proliferation in plants: copia and LINE-like elements in *Gossypium*. **Genome**, v. 51, n. 1, p. 11–18, jan. 2008.

HERNANDEZ-HERNANDEZ, T. et al. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). **American Journal of Botany**, v. 98, n. 1, p. 44–61, 1 jan. 2011.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T. et al. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. **New Phytologist**, v. 202, n. 4, p. 1382–1397, jun. 2014.

HERSHKOVITZ, M. A.; ZIMMER, E. A. On the Evolutionary Origins of the Cacti. **Taxon**, v. 46, n. 2, p. 217–232, 1997.

HIREMATH, S. C.; NAGASAMPIGE, M. H. Genome size variation and evolution in some species of *Dalbergia* Linn.f. (Fabaceae). **Caryologia**, v. 57, n. 4, p. 367–372, 1 jan. 2004.

HULTGREN, K. M. et al. Latitudinal variation in genome size in crustaceans. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 123, n. 2, p. 348–359, 15 jan. 2018.

HUNT, D.; TAYLOR, N.; INTERNATIONAL CACTACEAE SYSTEMATICS GROUP (EDS.). **The new cactus lexicon**. Milborne Port: dh Books, 2006.

JAKOB, S. S.; MEISTER, A.; BLATTNER, F. R. The Considerable Genome Size Variation of *Hordeum* Species (Poaceae) Is Linked to Phylogeny, Life Form, Ecology, and Speciation Rates. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, n. 5, p. 860–869, 1 maio 2004.

JUDD, W. S. et al. **Plant Systematics: A Phylogenetic Approach**. Fourth Edition ed. Oxford, New York: Oxford University Press, 2015.

KALENDAR, R. et al. Genome evolution of wild barley (*Hordeum spontaneum*) by BARE-1 retrotransposon dynamics in response to sharp microclimatic divergence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 12, p. 6603–6607, 6 jun. 2000.

KAMILAR, J. M.; COOPER, N. Phylogenetic signal in primate behaviour, ecology and life history. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 368, n. 1618, p. 20120341–20120341, 8 abr. 2013.

KANG, M. et al. Adaptive and nonadaptive genome size evolution in Karst endemic flora of China. **New Phytologist**, v. 202, n. 4, p. 1371–1381, 2014.

KELLY, L. J. et al. Analysis of the giant genomes of *Fritillaria* (Liliaceae) indicates that a lack of DNA removal characterizes extreme expansions in genome size. **New Phytologist**, v. 208, n. 2, p. 596–607, out. 2015.

KELLY, L. J.; LEITCH, I. J. Exploring giant plant genomes with next-generation sequencing technology. **Chromosome Research**, v. 19, n. 7, p. 939–953, 1 out. 2011.

KNIGHT, C. A.; ACKERLY, D. D. Variation in nuclear DNA content across environmental gradients: a quantile regression analysis. **Ecology Letters**, v. 5, n. 1, p. 66–76, 2002.

KNIGHT, C. A.; BEAULIEU, J. M. Genome Size Scaling through Phenotype Space. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 759–766, abr. 2008.

- KNIGHT, C. A.; MOLINARI, N. A.; PETROV, D. A. The Large Genome Constraint Hypothesis: Evolution, Ecology and Phenotype. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 177–190, 1 jan. 2005.
- LAS PEÑAS, M. L. et al. Classical and molecular cytogenetics and DNA content in *Maihuenia* and *Pereskia* (Cactaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 300, n. 3, p. 549–558, mar. 2014.
- LAS PEÑAS, M. L.; KIESLING, R.; BERNARDELLO, G. Phylogenetic reconstruction of the genus *Tephrocactus* (Cactaceae) based on molecular, morphological, and cytogenetical data. **TAXON**, v. 68, n. 4, p. 714–730, ago. 2019.
- LEITCH, I. J. et al. Evolution of DNA Amounts Across Land Plants (Embryophyta). **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 207–217, 1 jan. 2005.
- LEITCH, I. J. et al. Punctuated genome size evolution in Liliaceae. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 20, n. 6, p. 2296–2308, 2007.
- LEITCH, I. J. et al. Genome size diversity in orchids: consequences and evolution. **Annals of Botany**, v. 104, n. 3, p. 469–481, 1 ago. 2009.
- LEITCH, I. J. et al. **Angiosperm DNA C-values database (release 9.0, Apr 2019)** <https://cvalues.science.kew.org/>. Disponível em: <<https://cvalues.science.kew.org/search/angiosperm>>. Acesso em: 2 jul. 2019.
- LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. Polyploidy in angiosperms. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 12, p. 470–476, 1 dez. 1997.
- LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. Genome downsizing in polyploid plants. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 82, n. 4, p. 651–663, 9 ago. 2004.
- LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. Genome Size and its Uses: The Impact of Flow Cytometry. In: **Flow Cytometry with Plant Cells**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2007. p. 153–176.
- LEITCH, I. J.; CHASE, M. W.; BENNETT, M. D. Phylogenetic Analysis of DNA C-values Provides Evidence for a Small Ancestral Genome Size in Flowering Plants. **Annals of Botany**, v. 82, n. suppl_1, p. 85–94, 1 dez. 1998.
- LEUENBERGER, B. E. **Pereskia: Cactaceae**. Bronx, N.Y: New York Botanical Garden Pr Dept, 1986.
- LEVIN, D. A.; FUNDERBURG, S. W. Genome Size in Angiosperms: Temperate Versus Tropical Species. **The American Naturalist**, v. 114, n. 6, p. 784–795, 1 dez. 1979.
- LOMBELLO, R. A.; FORNI-MARTINS, E. R. Cytological Studies in Climbers of a Brazilian Forest Reserve. **CYTOLOGIA**, v. 63, n. 4, p. 415–420, 1998.
- LOUREIRO, J. et al. Comparison of four nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry. **Annals of Botany**, v. 98, n. 3, p. 679–689, set. 2006.
- LÜTTGE, U. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). **Annals of Botany**, v. 93, n. 6, p. 629–652, jun. 2004.

LYU, H. et al. Convergent adaptive evolution in marginal environments: unloading transposable elements as a common strategy among mangrove genomes. **The New Phytologist**, v. 217, n. 1, p. 428–438, jan. 2018.

MACAS, J. et al. In Depth Characterization of Repetitive DNA in 23 Plant Genomes Reveals Sources of Genome Size Variation in the Legume Tribe Fabeae. **PLOS ONE**, v. 10, n. 11, p. e0143424, 25 nov. 2015.

MAJURE, L. C. et al. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 5, p. 847–864, maio 2012.

MARINHO, R. C. et al. Do chromosome numbers reflect phylogeny? New counts for Bombacoideae and a review of Malvaceae s.l. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 9, p. 1456–1465, 1 set. 2014.

MAUSETH, J. D. Structure-function relationships in highly modified shoots of cactaceae. **Annals of Botany**, v. 98, n. 5, p. 901–926, nov. 2006.

MICHAELSON, M. J. et al. Comparison of plant dna contents determined by feulgen microspectrophotometry and laser flow cytometry. **American Journal of Botany**, v. 78, n. 2, p. 183–188, fev. 1991.

MORRONE, J. J. América do Sul e Geografia da Vida: Comparação de Algumas Propostas de Regionalização. p. 27, 2011.

MRÁZ, P.; CHRTEK, J.; ŠINGLIAROVÁ, B. Geographical parthenogenesis, genome size variation and pollen production in the arctic-alpine species *Hieracium alpinum*. **Botanica Helvetica**, v. 119, n. 1, p. 41–51, 1 ago. 2009.

MÜLLER, L.-L. B.; ZOTZ, G.; ALBACH, D. C. Bromeliaceae subfamilies show divergent trends of genome size evolution. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 26 mar. 2019.

NEGRON-ORTIZ, V. Chromosome numbers, nuclear DNA content, and polyploidy in *Consolea* (Cactaceae), an endemic cactus of the Caribbean Islands. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 8, p. 1360–1370, 1 ago. 2007.

NOBEL, P. S. (ED.). **Cacti: biology and uses**. Berkeley: University of California Press, 2002.

NODAL-MORENO, S. A. et al. Análisis del tamaño del genoma, poliploidía y patrón endopoliploide en poblaciones de *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae) en Tamaulipas, México. **Acta Universitaria**, v. 29, p. 1–11, 16 out. 2019.

NOVÁK, P. et al. Genome-Wide Analysis of Repeat Diversity across the Family Musaceae. **PLOS ONE**, v. 9, n. 6, p. e98918, 16 jun. 2014.

NYFFELER, R. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/ matK and trnL-trnF sequences. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 2, p. 312–326, 2002.

NYFFELER, R. The closest relatives of cacti: insights from phylogenetic analyses of chloroplast and mitochondrial sequences with special emphasis on relationships in the tribe Anacampseroteae. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 1, p. 89–101, jan. 2007.

OHRI, D. Genome Size Variation and Plant Systematics. **Annals of Botany**, v. 82, p. 75–83, dez. 1998.

O'MEARA, B. C. et al. Non-equilibrium dynamics and floral trait interactions shape extant angiosperm diversity. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1830, p. 20152304, 11 maio 2016.

PALOMINO, G. et al. Nuclear genome size, ploidy level and endopolyploidy pattern in six species of *Opuntia* (Cactaceae). **Caryologia**, v. 69, n. 1, p. 82–89, 2 jan. 2016.

PARADIS, E. An Introduction to the Phylogenetic Comparative Method. In: GARAMSZEGI, L. Z. (Ed.). **Modern Phylogenetic Comparative Methods and Their Application in Evolutionary Biology: Concepts and Practice**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014. p. 3–18.

PELLICER, J. et al. Genome size dynamics in tribe Gilliesieae (Amaryllidaceae, subfamily Allioideae) in the context of polyploidy and unusual incidence of Robertsonian translocations. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 184, n. 1, p. 16–31, 2017.

PELLICER, J. et al. Genome Size Diversity and Its Impact on the Evolution of Land Plants. **Genes**, v. 9, n. 2, 14 fev. 2018.

PELLICER, J.; FAY, M. F.; LEITCH, I. J. The largest eukaryotic genome of them all? **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 164, n. 1, p. 10–15, 15 set. 2010.

PELLICER, J.; LEITCH, I. J. The Application of Flow Cytometry for Estimating Genome Size and Ploidy Level in Plants. In: BESSE, P. (Ed.). **Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols**. Methods in Molecular Biology. Totowa, NJ: Humana Press, 2014. p. 279–307.

PENNELL, M. W.; HARMON, L. J. An integrative view of phylogenetic comparative methods: connections to population genetics, community ecology, and paleobiology: Integrative comparative methods. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1289, n. 1, p. 90–105, jun. 2013.

PUTTICK, M. N.; CLARK, J.; DONOGHUE, P. C. J. Size is not everything: rates of genome size evolution, not C-value, correlate with speciation in angiosperms. **Proceedings. Biological Sciences**, v. 282, n. 1820, p. 20152289, 7 dez. 2015.

RAYBURN, A. L.; AUGER, J. A. Genome size variation in *Zea mays* ssp. *mays* adapted to different altitudes. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 79, n. 4, p. 470–474, abr. 1990.

RENNY-BYFIELD, S. et al. Diploidization and genome size change in allopolyploids is associated with differential dynamics of low- and high-copy sequences. **The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology**, v. 74, n. 5, p. 829–839, jun. 2013.

REVELL, L. J.; HARMON, L. J.; COLLAR, D. C. Phylogenetic Signal, Evolutionary Process, and Rate. **Systematic Biology**, v. 57, n. 4, p. 591–601, 1 ago. 2008.

- RIBEIRO, T. et al. Are holocentrics doomed to change? Limited chromosome number variation in *Rhynchospora* Vahl (Cyperaceae). **Protoplasma**, v. 255, n. 1, p. 263–272, jan. 2018.
- SADER, M. A. et al. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Systematics and Biodiversity**, v. 17, n. 1, p. 7–21, 2 jan. 2019.
- SCHMIDT, G.; THANNHAUSER, S. J. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 161, n. 1, p. 83–89, 11 jan. 1945.
- SCHMUTHS, H. et al. Genome Size Variation among Accessions of *Arabidopsis thaliana*. **Annals of Botany**, v. 93, n. 3, p. 317–321, 1 mar. 2004.
- SCHUBERT, I.; LYSAK, M. A. Interpretation of karyotype evolution should consider chromosome structural constraints. **Trends in Genetics**, v. 27, n. 6, p. 207–216, jun. 2011.
- SEGURA, S. et al. Genome sizes and ploidy levels in Mexican cactus pear species *Opuntia* (Tourn.) Mill. series *Streptacanthae* Britton et Rose, *Leucotrichae* DC., *Heliabravoanae* Scheinvar and *Robustae* Britton et Rose. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 5, p. 1033–1041, 28 jun. 2007.
- SHAPIRO, H. M. **Practical flow cytometry**. 4th ed ed. New York: Wiley-Liss, 2003.
- SILVA, R. G. N. **Genome size of invasive and non-invasive succulent species**. Master's Thesis—Coimbra: Universidade de Coimbra, 2015.
- SIMONIN, K. A.; RODDY, A. B. Genome downsizing, physiological novelty, and the global dominance of flowering plants. **PLOS Biology**, v. 16, n. 1, p. e2003706, 11 jan. 2018.
- ŠMARDA, P.; BUREŠ, P. Intraspecific DNA Content Variability in *Festuca pallens* on Different Geographical Scales and Ploidy Levels. **Annals of Botany**, v. 98, n. 3, p. 665–678, 1 set. 2006.
- SOLTIS, D. E. et al. Evolution of genome size in the angiosperms. **American Journal of Botany**, v. 90, n. 11, p. 1596–1603, 2003.
- SOLTIS, D. E. et al. Polyploidy: Pitfalls and paths to a paradigm. **American Journal of Botany**, v. 103, n. 7, p. 1146–1166, jul. 2016.
- SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 13, p. 7051–7057, 20 jun. 2000.
- SOUZA, G. et al. Do tropical plants have smaller genomes? Correlation between genome size and climatic variables in the *Caesalpinia* Group (Caesalpinioideae, Leguminosae). **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 38, p. 13–23, 1 jun. 2019.
- SOUZA, G.; CROSA, O.; GUERRA, M. Karyological, morphological, and phylogenetic diversification in *Leucocoryne* Lindl (Allioideae, Amaryllidaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 301, n. 8, p. 2013–2023, out. 2015.

- SOUZA, M. M. et al. Flow cytometric analysis of genome size variation in some *Passiflora* species. **Hereditas**, v. 141, n. 1, p. 31–38, 1 ago. 2004.
- STEBBINS, G. L. Chromosomal Variation and Evolution. **Science**, v. 152, n. 3728, p. 1463–1469, 10 jun. 1966.
- SWIFT, H. The Constancy of Desoxyribose Nucleic Acid in Plant Nuclei. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 36, n. 11, p. 643–654, 1 nov. 1950.
- TATE, J. A.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. Polyploidy in Plants. In: **The Evolution of the Genome**. [s.l.] Elsevier, 2005. p. 371–426.
- TAYLOR, N. P.; ZAPPI, D. C. **Cacti of Eastern Brazil**. 1. ed ed. Kew: Royal Botanic Gardens, 2004.
- TEL-ZUR, N. et al. Phenotypic and genomic characterization of vine cactus collection (Cactaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, n. 7, p. 1075–1085, out. 2011.
- TRÁVNÍČEK, P. et al. Diversity in genome size and GC content shows adaptive potential in orchids and is closely linked to partial endoreplication, plant life-history traits and climatic conditions. **The New Phytologist**, 19 jun. 2019.
- TRIPATI, A. K.; ROBERTS, C. D.; EAGLE, R. A. Coupling of CO₂ and ice sheet stability over major climate transitions of the last 20 million years. **Science (New York, N.Y.)**, v. 326, n. 5958, p. 1394–1397, 4 dez. 2009.
- TRIVERS, R.; BURT, A.; PALESTIS, B. G. B chromosomes and genome size in flowering plants. **Genome**, v. 47, n. 1, p. 1–8, 1 jan. 2004.
- VAIO, M. et al. Phylogenetic and cytogenetic relationships among species of *Oxalis* section *Articulatae* (Oxalidaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 302, n. 9, p. 1253–1265, nov. 2016.
- VAN-LUME, B. et al. Heterochromatic and cytomolecular diversification in the *Caesalpinia* group (Leguminosae): Relationships between phylogenetic and cytogeographical data. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 29, p. 51–63, 1 dez. 2017.
- VESELÝ, P. et al. Genome size and DNA base composition of geophytes: the mirror of phenology and ecology? **Annals of Botany**, v. 109, n. 1, p. 65–75, jan. 2012.
- VÍT, P. et al. Genome size stability across Eurasian *Chenopodium* species (Amaranthaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182, n. 3, p. 637–649, 1 nov. 2016.
- VU, G. T. H. et al. Comparative Genome Analysis Reveals Divergent Genome Size Evolution in a Carnivorous Plant Genus. **The Plant Genome**, v. 8, n. 3, 1 nov. 2015.
- WANG, W.; KERSTETTER, R. A.; MICHAEL, T. P. **Evolution of Genome Size in Duckweeds (Lemnaceae)**. Research article. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jb/2011/570319/abs/>>. Acesso em: 1 jul. 2019.
- WEISS-SCHNEEWEISS, H. et al. Employing next generation sequencing to explore the repeat landscape of the plant genome. In: HÖRANDL, E.; APPELHANS, M. S. (Eds.). .

Next-generation sequencing in plant systematics. Regnum vegetabile. Königstein: Koeltz Scientific Books, 2015. p. 1–25.

WENG, M.-L. et al. Phylogeny, rate variation, and genome size evolution of Pelargonium (Geraniaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 64, n. 3, p. 654–670, 1 set. 2012.

YOTOKO, K. S. C. et al. Does Variation in Genome Sizes Reflect Adaptive or Neutral Processes? New Clues from Passiflora. **PLoS ONE**, v. 6, n. 3, p. e18212, 28 mar. 2011.

ZAPPI, D. et al. Cactaceae. **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:**

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1558>>., 2015.

ZONNEVELD, B. J. M.; LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. First Nuclear DNA Amounts in more than 300 Angiosperms. **Annals of Botany**, v. 96, n. 2, p. 229–244, 1 ago. 2005.

ANEXO A - NORMAS DE SUBMISSÃO PARA A REVISTA “GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY”



GENETICS and MOLECULAR BIOLOGY

[About the journal](#)
[Editors and Editorial Board](#)
[Instructions to Authors](#)
[Subscription](#)
[Online Version](#)
[Obituaries](#)

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Scope and Policy

Submission of Papers

Gene/Protein Nomenclature Guidelines

SCOPE AND POLICY

Genetics and Molecular Biology (formerly named Revista Brasileira de Genética/Brazilian Journal of Genetics - ISSN 0100-8455) is published by the Sociedade Brasileira de Genética (Brazilian Society of Genetics).

The Journal considers contributions that present the results of original research in genetics, evolution and related scientific disciplines. Manuscripts presenting methods and applications only, without an analysis of genetic data, will not be considered.

Although **Genetics and Molecular Biology** is an official publication of the Sociedade Brasileira de Genética (Brazilian Society of Genetics), contributors are not required to be members of the Society.

It is a fundamental condition that submitted manuscripts have not been and will not be published elsewhere. With the acceptance of a manuscript for publication, the publishers acquire full and exclusive copyright for all languages and countries.

Manuscripts considered in conformity with the scope of the journal, judged by the Editor, are reviewed by the Associate Editors and two or more external reviewers. Acceptance by the Editor is based on the quality of the work as substantial contribution to the field and on the overall presentation of the manuscript.

Genetics and Molecular Biology follows an Open-Access policy. Articles are made available in full content at SciELO (Scientific Library Online) hosted at www.scielo.br/gmb. Back issues dating to 1998 are available through this site. Back issues of the earlier titles (Brazilian Journal of Genetics and Revista Brasileira de Genética) are hosted at GMB's own site: www.gmb.org.br. GMB articles published since 2009 are also indexed at PubMed Central, and there are available as a full text version.

The official abbreviation for Genetics and Molecular Biology is Genet. Mol. Biol.

TALK TO US

Editors
 Carlos F. M. Menck
 Marcia Pinheiro Margis
 E-mail: editor@gmb.org.br

Assistant Editor
 Klaus Hartfelder
 E-mail: editor@gmb.org.br

Editorial Office
 Cristina de Moraes
 E-mail: editor@gmb.org.br



© 2015 por [Eveli Alexandre](#)

<https://www.gmb.org.br/submission-of-papers>