



TAMAÑO DEL GENOMA EN ESPECIES DEL GÉNERO SUDAMERICANO *CHRYSOLAENA* (VERNONIEAE: ASTERACEAE) Y SU RELACIÓN CON CARACTERÍSTICAS CITOGENÉTICAS Y AMBIENTALES

Genome size in species of the South American genus *Chrysolaena* (Vernonieae: Asteraceae) and its relationship with cytogenetic and environmental characteristics

Gisela M. Via do Pico^{1*}, Gabriela E. Farco² & Danilo Marques³

Resumen: El tamaño del genoma es un atributo de las especies que a menudo permite delimitar taxones, influye en la diversidad genética y puede estar relacionado con características morfológicas, ecológicas y de distribución. *Chrysolaena* H. Rob. (Vernonieae, Asteraceae) es un género sudamericano, citogenéticamente muy diverso, con una gran variación cromosómica interespecífica e intraespecífica. En este trabajo se determinó el tamaño del genoma (valor 2C) de especies de *Chrysolaena* a fin de hallar variaciones entre los diferentes números cromosómicos que presentan las especies, relacionar el tamaño del genoma con los números cromosómicos, la latitud y variables ambientales, y ampliar la base de datos para las Asteraceae. Los resultados de la regresión lineal mostraron que el valor 2C está relacionado con el número de cromosomas. Sin embargo, la correlación con la latitud y las variables ambientales es muy baja. Las tendencias evolutivas en el tamaño del genoma abarcan tanto aumentos como disminuciones y la poliploidía sería el principal mecanismo que genera aumentos en el contenido de ADN genómico. Los resultados de este estudio constituyen una importante contribución al conocimiento del tamaño del genoma de un género representativo de la familia Asteraceae en América del Sur.

Palabras clave: Contenido de ADN, número cromosómico, valor 2C, variables climáticas, variables edáficas.

Summary: Genome size is a species level that often allows taxon delimitation, influences genetic diversity, and can be related to morphological, ecological, and distribution characteristics. *Chrysolaena* H. Rob. (Vernonieae, Asteraceae) is a South American genus, highly cytogenetically diverse, exhibiting large interspecific and intraspecific chromosomal variation. In this work, the genome size (2C value) of *Chrysolaena* species was determined to assess variation among the different chromosome numbers present in the species, to examine the relationship between genome size and chromosome numbers, latitude, and environmental variables, and expand the database for Asteraceae. Linear regression results showed that the 2C value is related to chromosome number. However, the correlation with latitude and environmental variables is very low. Evolutionary trends in genome size include both increases and decreases, and polyploidy is believed to be the main mechanism generating increases in genomic DNA content. The results of this study constitute an important contribution to the knowledge of genome size in a representative genus of the Asteraceae family in South America.

Key words: Chromosome number, DNA content, 2C value, climatic variables, soil variables.

¹ Instituto de Botánica del Nordeste (UNNE-CONICET), Sargento Cabral 2131, Casilla de Correo 209, CP 3400, Corrientes, Argentina. *E-mail: giselaviadopico@gmail.com

² Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE), Avenida Libertad 5470.

³ Instituto de Biología (UFU), Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Introducción

El tamaño del genoma es atributo básico específico de las especies que puede utilizarse como ayuda en la clasificación y determinación de las mismas, permite la identificación de poliploidía, hibridación y otros modos de evolución del genoma o del cariotipo, y es una propiedad fenotípica cuya evolución puede vincularse causalmente con el entorno en el que se encuentra una especie (Šmarda & Bureš, 2006; Suda *et al.*, 2007; Greilhuber & Leitch, 2013; Faizullah *et al.*, 2021; Elliott *et al.*, 2022; Bureš *et al.*, 2023, 2024). Numerosos trabajos lo han relacionado con características morfológicas, ecológicas y de distribución (Bottini *et al.*, 2000; Knight & Ackerly, 2002; Bennett & Leitch, 2005; Bancheva & Greilhuber, 2006; Slovák *et al.*, 2009; Dušková *et al.*, 2010). Sin embargo, el tamaño del genoma también puede variar entre poblaciones; y esta variación no está necesariamente relacionada con el nivel de ploidía (Bennett & Leitch, 2005). En estos casos se lo ha relacionado, por ejemplo, con factores que afectan la tasa de crecimiento de las plantas, características como el tiempo mínimo de generación celular, el ciclo de vida, la fenología de la planta y algunos parámetros importantes para los fitomejoradores, como la resistencia a las heladas, la producción de biomasa, el tiempo del ciclo celular y la síntesis de ADN (Ohri, 1998; Burton & Husband, 2001).

Entre los diversos métodos utilizados para la estimación del contenido de ADN nuclear de las plantas, la citometría de flujo (FCM) es un método rápido y preciso, y en la actualidad se aplica con frecuencia debido a su fiabilidad, facilidad y costo relativamente bajo (Doležel *et al.*, 2007). El reciente aumento en el uso de la citometría de flujo en estudios botánicos ha llevado a una acumulación sustancial de datos estandarizados del tamaño del genoma en amplias escalas filogenéticas y geográficas (García *et al.*, 2014; Leitch *et al.*, 2019; Šmarda *et al.*, 2019). Esta información se utiliza en una amplia gama de campos biológicos (p. ej., véanse Bennett *et al.*, 2000 y Bennett & Leitch *et al.*, 2011). Sin embargo, la información sobre el contenido de ADN en diferentes taxones de

plantas suele ser difícil de localizar, ya que los datos publicados están muy dispersos en una amplia gama de revistas y una proporción significativa no está publicada ni disponible (Leitch *et al.*, 2019).

La familia Asteraceae es la más grande en términos de número de especies de plantas con alrededor de 32000 especies. Comprende plantas económicamente importantes, incluyendo algunos cultivos, y es una de las familias de distribución más cosmopolita, estando abundantemente presente en todas partes del mundo excepto en tierras antárticas (Funk *et al.*, 2009). El número de especies de Asteraceae con información disponible sobre el tamaño del genoma es mayor que en las angiospermas en general; sin embargo, todavía solo se acerca al 5% (García *et al.*, 2014). La magnitud de la información generada condujo a la creación de una base de datos: THE GENOME SIZE IN THE ASTERACEAE DATABASE (GSAD) (www.asteraceagenomesize.com) (Garnatje *et al.*, 2011). Actualmente, la base de datos tiene disponible el tamaño genómico de 1555 especies basado en 4350 informes de 198 publicaciones (Release 3.0).

Chrysolaena H. Rob. (Vernonieae, Asteraceae) es un género sudamericano formado por 19 especies concentradas geográficamente en el sur de Brasil y el norte de Argentina, y con algunas especies extendiéndose a Uruguay, Paraguay, Bolivia y Perú (Robinson, 1999; Dematteis, 2009; Via do Pico, 2015; Via do Pico *et al.*, 2019; Soares *et al.*, 2020; Flora e Funga do Brasil, 2024). La mayoría de las especies tienen una amplia distribución geográfica. Sin embargo, existen algunas especies endémicas, como *Chrysolaena nicolackii* H. Rob., *C. dusenii* (Malme) Dematt., *C. sceptrum* (Chodat.) Dematt., *C. guaranitica* Dematt., *C. candelabrum* (Chodat.) Dematt., *C. cordifolia* Dematt. y *C. glandulosa* P. N. Soares & J. N. Nakaj. (Robinson, 1999; Dematteis, 2009; Via do Pico, 2015; Soares *et al.*, 2020). A pesar de las características morfológicas (forma de la inflorescencia, tipo de polen, microcaracteres florales y vegetativos) tomadas en cuenta para la circunscripción del género (Robinson, 1988), el número de cromosomas es

probablemente uno de los caracteres más importantes para separar *Chrysolaena* de los demás géneros de la tribu Vernonieae, ya que no existen otros géneros americanos con un número básico $x=10$, el cual se considera primitivo y típico de las Vernonieae del Viejo Mundo (Dematteis, 2009; Keeley & Robinson, 2009). Estudios anteriores revelaron que es un género citogenéticamente muy diverso, con una variación cromosómica interespecífica e intraespecífica significativa. Se han reportado especies con niveles de ploidía que van desde diploides ($2n=2x=20$) hasta octoploides ($2n=8x=80$), incluidas algunas especies con números cromosómicos impares (Dematteis, 2009; Via do Pico & Dematteis, 2012, 2013, 2014, 2017; Via do Pico *et al.*, 2019). El estudio más reciente revela que la mayoría (91%) de las especies estudiadas hasta el momento son poliploides, y que los citotipos diploides y tetraploides son los más frecuentes entre las poblaciones. El estudio también reveló la ocurrencia de poliploidía intraespecífica en el 82% del total de especies estudiadas (Via do Pico *et al.*, 2019).

Los estudios del tamaño de genoma con citometría de flujo son casi nulos dentro de las Vernonieae. Los únicos trabajos publicados se realizaron en los géneros *Lessingianthus* H. Rob. y *Vernonanthura* H. Rob. (Angulo & Dematteis 2013; Vega & Dematteis, 2016). En un estudio cariotípico realizado en algunas especies de *Chrysolaena* se ha dado a conocer el valor de $2C$ de cinco especies (Via do Pico & Dematteis, 2013).

Dada la variabilidad citotípica del género, se postula que el contenido de ADN varía en función de los niveles de ploidía, lo que permitiría utilizarlo como un predictor del número cromosómico. Asimismo, en virtud de la vasta distribución geográfica del género, se busca establecer si existe correlación entre el tamaño del genoma y las variables ambientales.

El objetivo de este trabajo es determinar el tamaño del genoma (valor $2C$) de especies de *Chrysolaena* a fin de hallar variaciones entre los diferentes números cromosómicos que presentan las especies, relacionar el tamaño del genoma con los números cromosómicos, la latitud y variables ambientales, y ampliar la base de datos para las Asteraceae.

Materiales y Métodos

Contenido de ADN

Se estudiaron ocho especies de *Chrysolaena* (alrededor del 45% del género) de 28 poblaciones naturales de localidades de Argentina, Paraguay y Uruguay (Fig. 1). Los especímenes estudiados son listados en la Tabla 1, donde se incluye la información publicada previamente respecto al número de cromosoma y/o contenido de ADN de nueve poblaciones (Via do Pico & Dematteis, 2013, 2014, 2017; Echeverría & Camadro, 2017; Via do Pico *et al.*, 2019).

El contenido de ADN nuclear se estimó mediante citometría de flujo de acuerdo con el protocolo de Doležel & Göhde (1995). Para este propósito, se utilizaron hojas jóvenes de plantas vivas mantenidas en condiciones de invernadero en el Instituto de Botánica del Nordeste. Los especímenes testigo se depositaron en el herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (CTES). Se utilizó un total de tres individuos por población y se realizaron tres estimaciones del contenido de ADN por individuo (5000-10000 núcleos por análisis). Se utilizaron tres patrones como estándares de referencia: *Paspalum intermedium* Munro ex Morong & Britton Sch 28857 (diploide, $2C=1,417$ pg), *P. dilatatum* ssp. *flavescens* Roseng., B.R. Arrill. & Izag. (tetraploide, $2C=2,43$ pg) y *P. dilatatum* Poir. var. *chiru* Millot ex P. R. Speranza & G. H. Rua (hexaploide, $2C=3,57$ pg). El contenido de ADN nuclear (valor $2C$) se calculó como: (media del pico de la muestra/media del pico del estándar) $\times$ contenido de ADN $2C$ del estándar (pg). Se calculó el coeficiente de variación (HPCV: desviación estándar dividida por la media de los picos) para cada muestra. Además, se calculó el valor Cx que es el contenido de ADN por genoma monoploide (contenido de ADN $2C$ /nivel de ploidía).

Análisis estadístico

Para analizar la relación entre el contenido de ADN con el número de cromosomas y/o ploidía se utilizaron recuentos cromosómicos publicados previamente para las entidades analizadas (Via do Pico & Dematteis, 2012, 2013; Echeverría & Camadro, 2017; Via do

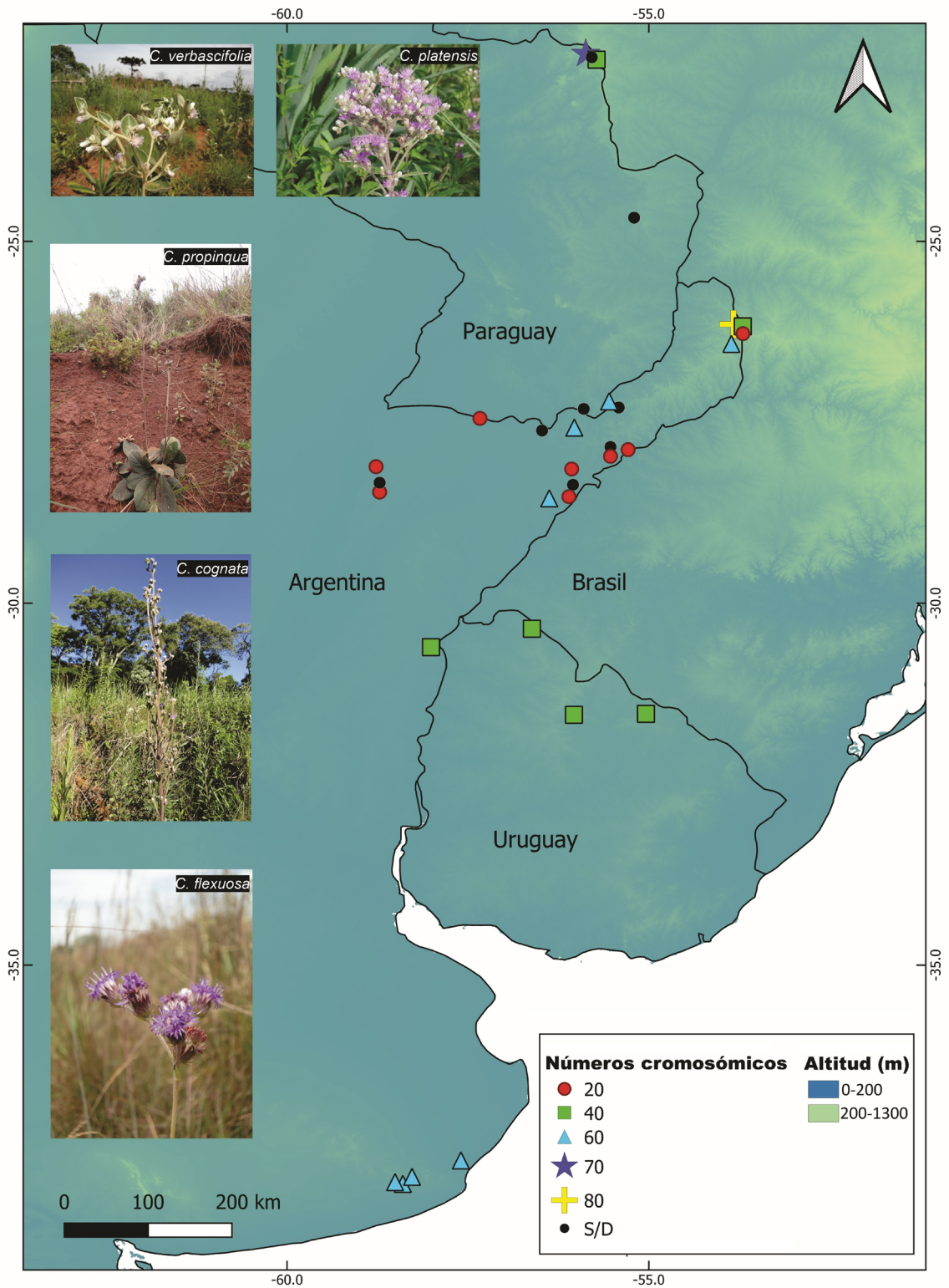


Fig. 1. Distribución geográfica y números cromosómicos de las poblaciones de *Chrysolaena* analizadas.

Tabla 1. Localidad y datos de ejemplares de herbario, georreferenciación, valor 2C (pg), valor Cx (pg), número cromosómico, nivel de ploidía, y números cromosómicos estimados con la función obtenida en la regresión lineal de las especies de *Chrysolaena* analizadas en este trabajo y en publicaciones previas. La primera columna indica el código asignado a cada población. Los valores de los números cromosómicos se redondearon considerando el número básico del género ($x=10$) y se indican entre paréntesis. Abreviaturas: CP: Código de la población, LDH: Localidad y datos de ejemplar de herbario, V1: Valor 2C (pg) $\pm$ DE, V2: Valor Cx (pg), NC: Número cromosómico, NP: Nivel de ploidía, NCE: Número cromosómico estimado.

CP	Especie	LDH	Longitud	Latitud	V1	V2	NC	NP	NCE
cog6 °		ARGENTINA. Corrientes: Dep. San Roque. 12 km N de San Roque, <i>Via do Pico et al. 6.</i>	-58,721111	-28,464167	1,82 $\pm$ 0,02	0,91	20†	2x	-
cog27 °		ARGENTINA. Misiones: Dep. Capital. Camino al arroyo Zaimán, <i>Via do Pico et al. 27.</i>	-55,899722	-27,444444	10,00 $\pm$ 0,15	1,66	60†	6x	-
cog30 °		ARGENTINA. Misiones: 18 km E de Santa Ana, camino a Oberá ruta, <i>Via do Pico et al. 30.</i>	-55,415833	-27,425	8,79 $\pm$ 0,47	-	-	-	51,96 (50-60)
cog31 °		ARGENTINA. Misiones: Dep. San Ignacio, 5,5 km W de General Urquiza, camino a Puerto Helena, <i>Via do Pico et al. 31.</i>	-55,418333	-27,082222	8,16 $\pm$ 0,16	1,36	60†	6x	-
cog32 °	C. cognata (Less.) Dematt.	ARGENTINA. Misiones: Dep. Gral. Manuel Belgrano, 4 km E de Dos Hermanas, camino a Bernardo de Irigoyen, ruta 17, <i>Via do Pico et al. 32.</i>	-53,728333	-26,2875	14,69 $\pm$ 0,44	2,44	60†	6x	-
cog35		ARGENTINA. Misiones: Dep. Gral. Manuel Belgrano, Campinas de America, cementerio, <i>Via do Pico et al. 35.</i>	-53,699722	-26,274444	14,68 $\pm$ 0,30	-	-	-	82,31 (80)
cog39		ARGENTINA. Misiones: Dep. Concepción, 2 km NW de Concepción de la Sierra, camino a Apóstoles, <i>Via do Pico et al. 39.</i>	-55,529444	-27,969722	9,53 $\pm$ 0,32	-	-	-	55,74 (50-60)
cog53 °		ARGENTINA. Corrientes: Dep. Santo Tomé, RP 40, 40 km W de Santo Tomé, camino a Galarza, <i>Via do Pico et al. 53.</i>	-56,246111	-28,421667	7,77 $\pm$ 0,12	1,29	60†	6x	-
cog3053 °		ARGENTINA. Misiones: Dep. Gral. Manuel Belgrano, Campinas de America, cementerio, <i>Dematteis et al. 3053.</i>	-53,700556	-26,274028	12,27 $\pm$ 0,12	1,53	80	8x	-
cog3104	C. cognata (Less.) Dematt.	ARGENTINA. Misiones: Dep. San Javier, Arroyo Portera, <i>Dematteis et al. 3104.</i>	-55,202534	-24,801974	9,75 $\pm$ 0,10	-	-	-	56,89 (50-60)

CP	Especie	LDH	Longitud	Latitud	V1	V2	NC	NP	NCE
cog3761 °	<i>C. cognata</i> (Less.) Dematt.	URUGUAY. Dep. Tacuarembó: Gruta de los Helechos, 10 Km NW de Tacuarembó, <i>Dematteis et al.</i> 3761.	-56,035278	-31,639444	6,42 ± 0,08	1,60	40°	4x	-
cris4283 °	<i>C. cristobaliana</i> Dematt.	PARAGUAY. Dep. Amambay: Pedro Juan Caballero, cerrado degradado, cercano a comunidad vecinal, <i>Dematteis & Vega</i> 4283.	-55,7216	-22,585639	9,41 ± 0,28	1,34	70°	7x	-
fle5		ARGENTINA. Corrientes: Dep. San Roque, 12 km N de San Roque, ruta 12, <i>Via do Pico et al.</i> 5.	-55,7216	-22,585639	3,45 ± 0,04	-	-	-	24,35 (20)
fle14 °		ARGENTINA. Entre Ríos: Dep. Federación, 6,4 km NW de Chajarí, ruta 14, <i>Via do Pico et al.</i> 14.	-58,011111	-30,703333	5,83 ± 0,10	1,45	40°	4x	-
fle19 °		ARGENTINA. Corrientes: Dep. Santo Tomé, 7 km S de Santo Tomé, camino a Virasoro, <i>Via do Pico et al.</i> 19.	-56,103889	-28,527778	4,07 ± 0,64	2,03	20	2x	-
fle26 °		ARGENTINA. Misiones: Dep. Capital, Bañado junto al arroyo Zaimán, <i>Via do Pico et al.</i> 26.	-55,903056	-27,446389	2,98 ± 0,05	1,49	20°	2x*	-
fle45 °		ARGENTINA. Corrientes: Dep. Gral. Paz, campo cercano a la ruta 12, <i>Via do Pico et al.</i> 45.	-57,333611	-27,446389	3,26 ± 0,02	1,63	20°	2x	-
fle3703 °	<i>C. flexuosa</i> (Sims) H. Rob.	URUGUAY. Dep. Artigas: Ruta 3, 20 km W de Artigas, camino a Tomás Gomensoro, <i>Dematteis et al.</i> 3703.	-56,615833	-30,449167	6,26 ± 0,09	1,56	40°	4x	-
fle3750 °		URUGUAY. Dep. Tacuarembó: 14 km NE de Tacuarembó, 1,7 km después de Gruta de los Helechos, <i>Dematteis et al.</i> 3750.	-55,037778	-31,625	7,03 ± 0,11	1,75	40°	4x	-
fle301E °		ARGENTINA. Buenos Aires: Pdo. Gral. Pueyrredón, Sierra de Los Padres, <i>Echeverría</i> 301.	-57,467778	-37,571111	8,63 ± 0,16	1,44	60°	6x	-
fle302E °		ARGENTINA. Buenos Aires: Pdo. Balcarce, Sierra La Barrosa, <i>Echeverría</i> 302.	-58,270556	-37,894639	8,65 ± 0,08	1,44	60°	6x	-
fle303E °		ARGENTINA. Buenos Aires: Pdo. Balcarce, Sierra La Chata, <i>Echeverría</i> 303.	-58,377778	-37,870306	8,62 ± 0,13	1,44	60°	6x	-
fle304E °		ARGENTINA. Buenos Aires: Pdo. Balcarce, Sierra La Bachicha, <i>Echeverría</i> 304.	-58,143333	-37,797778	8,63 ± 0,09	1,44	60°	6x	-
lit3 °	<i>C. lithospermifolia</i> (Hieron.) H. Rob.	ARGENTINA. Corrientes: Dep. Saladas, arroyo San Lorenzo, <i>Via do Pico et al.</i> 3.	-58,77	-28,1125	3,58 ± 0,06	1,79	20†	2x	-
lit4 °		ARGENTINA. Corrientes: Dep. Saladas, arroyo San Lorenzo, <i>Via do Pico et al.</i> 4.	-58,770278	-28,113889	3,61 ± 0,06	1,80	20°	2x	-
pla36	<i>C. platensis</i> (Spreng.) H. Rob.	ARGENTINA. Misiones: Dep. Gral. Manuel Belgrano, Campinas de America, bañado detrás del cementerio, <i>Via do Pico et al.</i> 36.	-53,7	-26,271806	3,61 ± 0,05	-	-	-	25,18 (20-30)

CP	Especie	LDH	Longitud	Latitud	V1	V2	NC	NP	NCE
pla37	<i>C. platensis</i> (Spreng.) H. Rob.	ARGENTINA. Misiones: Dep. Gral. Manuel Belgrano, Campinas de America, detrás del campo deportivo del colegio, <i>Via do Pico et al. 37.</i>	-53,705278	-26,280278	12,99 ± 0,16	-	-	-	73,60 (70-80)
pro20 °		ARGENTINA. Corrientes: Dep. Santo Tomé, Virasoro, 12,7 km S de Virasoro, camino a Santo Tomé, <i>Via do Pico et al. 20.</i>	-56,065833	-28,145	5,06 ± 0,18	2,53	20†	2x	-
pro29		ARGENTINA. Misiones: Dep. Capital, camino al bañado del arroyo Zaimán, <i>Via do Pico et al. 29.</i>	-55,899722	-27,444444	3,35 ± 0,01	-	-	-	23,87 (20)
pro49		ARGENTINA. Corrientes: Dep. Ituzaingó, Libertad, RP 41, <i>Via do Pico et al. 49.</i>	-56,475556	-27,743333	5,23 ± 0,29	-	-	-	33,58 (40)
pro54	<i>C. propinqua</i> (Hieron.) H. Rob.	ARGENTINA. Corrientes: Dep. Santo Tomé, 8 km N de Santo Tomé, RP 40, <i>Via do Pico et al. 54.</i>	-56,0475	-28,493056	2,93 ± 0,01	-	-	-	21,7 (20)
pro3078 °		ARGENTINA. Misiones: Dep. Gral. Manuel Belgrano, Campinas de America, cementerio, <i>Dematteis et al. 3078.</i>	-53,7	-26,271806	9,05 ± 1,39	2,26	40	4x	-
pro4287		PARAGUAY. Dep. Amambay: Pedro Juan Caballero, cerrado degradado, cercano a comunidad vecinal, <i>Dematteis & Vega 4287.</i>	-55,788267	-22,58564	4,80 ± 0,10	-	-	-	31,36 (30-40)
sce4284 °	<i>C. sceptrum</i> (Chodat) Dematt.	PARAGUAY. Dep. Amambay: Pedro Juan Caballero, cerrado degradado, cercano a comunidad vecinal, <i>Dematteis & Vega 4284.</i>	-55,7216	-22,585639	5,14 ± 0,29	1,28	40*	4x	-
ver34 °		ARGENTINA. Misiones: Dep. Gral. Manuel Belgrano, Campinas de America, cementerio, <i>Via do Pico et al. 34.</i>	-53,698611	-26,275	3,48 ± 0,08	1,74	20"	2x	-
ver58 °	<i>C. verbascifolia</i> (Less.) H. Rob.	ARGENTINA. Misiones: Dep. San Javier, 20,4 km de San Javier, Camino a Azara, <i>Via do Pico et al. 58.</i>	-55,285833	-27,878056	2,68 ± 0,02	1,34	20"	2x	-
ver60 °		ARGENTINA. Misiones: Dep. Concepción de La Sierra, 2 km NW de Concepción de la Sierra, camino a Apóstoles, <i>Via do Pico et al. 60.</i>	-55,529444	-27,969722	2,71 ± 0,06	1,35	20†	2x	-

Referencias: •Via do Pico & Dematteis, 2013. *Via do Pico & Dematteis, 2014. ••Via do Pico & Dematteis, 2017. **Echeverría & Camadro, 2017. †Via do Pico *et al.*, 2019. ° Incluidos en análisis de regresión.

Pico *et al.*, 2019). Para este análisis solamente se tuvieron en cuenta 26 taxones, los cuales contaban con información sobre el número cromosómico y contenido de ADN (Tabla 1). Se realizaron diagramas de dispersión con los números cromosómicos en función de los valores 2C y Cx.

Para el análisis del contenido de ADN con el número cromosómico, la latitud y las variables ambientales se llevó a cabo una correlación de Pearson ($r = 0,7$). Las variables ambientales fueron descargadas manualmente de bases de datos online. Se obtuvieron las 19 variables bioclimáticas (Tabla 2) de la base de datos MERRAclim (Vega *et al.*, 2018) a una resolución de 2,5 minutos (~ 5 km). MERRAclim es un conjunto global de variables bioclimáticas basadas en satélites que incluye la región de la Antártida. Consta de tres conjuntos de datos de 19 variables bioclimáticas creados para tres décadas (1980, 1990 y 2000). Las variables edáficas (Tabla 2) se obtuvieron de la base de datos Soilgrid version 2.0 (Poggio *et al.*, 2021), que fueron transformadas a una resolución de 5 km en el programa QGIS versión 3.14 Pi (QGIS.org). Las variables fueron normalizadas. Se descartaron las variables longitud y altitud ya que mostraron correlación con otras variables y por mostrar poca variación en la muestra. Se obtuvo el valor de cada variable a partir de las coordenadas geográficas de cada entidad analizada. Para ello se utilizó el complemento Point Sampling Tool de QGIS versión 3.14 Pi.

Para establecer si existe una relación entre el contenido de ADN 2C y el número cromosómico se llevó a cabo una regresión lineal simple. Se utilizó esta aproximación exploratoria, ya que no se cuenta con una filogenia del grupo taxonómico en estudio para realizar una regresión filogenética. A partir del modelo lineal obtenido se estimó el número cromosómico de las entidades con número cromosómico desconocido. Los valores de los números cromosómicos se redondearon considerando el número básico del género $x = 10$ (Tabla 1). Todos los análisis estadístico y gráficos se realizaron en R versión 4.3.3. Para los análisis estadísticos se utilizaron las funciones base de R “cor” y “lm” y para la confección de gráficos se utilizó el paquete “ggplot2” (Wickham, 2016).

Resultados

En la Tabla 1 se muestran los valores de contenido de ADN 2C y Cx (cuando se conoce el número cromosómico/nivel de ploidía), de las 37 poblaciones de las ocho especies de *Chrysolaena* analizadas. Algunos de los histogramas del contenido de ADN nuclear 2C obtenidos mediante citometría de flujo se muestran en la Fig. 2. Los coeficientes de variación (HPCV) variaron entre 0,71 y 6,32 % (Tabla 1), lo que respalda la fiabilidad de las evaluaciones de citometría de flujo. El valor 2C varió de 1,82 pg en la población *cog6*, (*C. cognata*, diploide, $2n = 2x = 20$) a 14,69 pg en *cog32* (hexaploide, $2n = 6x = 60$). Entre las entidades con nivel de ploidía conocido, el menor valor 2C entre las entidades diploides se encontró en *cog6*, mientras que el valor más alto se detectó en *fle19* (*C. flexuosa*) (4,07 pg). Entre los tetraploides, *C. sceptrum* (*sce4284*) presentó el menor valor de 2C (5,14 pg) y *C. propinqua* (*pro3078*) el más alto (9,05 pg). Respecto a los hexaploides, *cog31* (8,16 pg) presentó el menor contenido de ADN y *cog32* (14,69 pg) el mayor. *Chrysolaena cristobaliana* (*cris4283*), la única población heptaploide, presentó 9,41 pg, y *cog53* (octoploide) presentó 12,21 pg.

Se observó variación intraespecífica en algunos taxones presentando diferencias de hasta 1,89 veces (Tabla 1). El valor de ADN 2C entre los hexaploides de *C. cognata* varió entre 8,16 y 14,69 pg; en los diploides de *C. flexuosa* la variación estuvo entre 2,98-4,07 pg y en *C. verbascifolia* (diploide) el valor osciló entre 2,68-3,48 pg.

Los valores de Cx varían desde 0,91 pg en *cog6* hasta 2,53 pg en *pro20*. Entre las diferentes poblaciones de una misma especie (diploide o poliploides) los valores de Cx variaron entre 0,91 pg en *cog6* y 2,44 pg en *cog32*. En *C. flexuosa*, este valor oscila entre 1,46 pg en *fle14* y 2,03 pg en *fle19*. Todas las poblaciones de *C. verbascifolia* (diploides) presentan valores similares de Cx, entre 1,34 y 1,74 pg.

El diagrama de dispersión que relaciona el valor de 2C con el número cromosómico (Fig. 3A) muestra 3 agrupamientos aproximados, con solapamientos entre citotipos y algunas excepciones notables: el grupo 1 incluye a las

Tabla 2. Códigos, descripción y unidades de medidas de las variables climáticas y edáficas incluidas en el análisis de correlación.

Código de la Variable	Descripción	Unidad
Bio1	Temperatura media anual	*10 °C
Bio2	Rango medio diurno [Media mensual (temperatura máxima-temperatura mínima)]	*10 °C
Bio3	Isotermalidad (BIO 2 / BIO 7) × (100)	*10 °C
Bio4	Rango medio diurno [Media mensual (temperatura máxima-temperatura mínima)]	*10 °C
Bio5	Temperatura máxima del mes más cálido	*10 °C
Bio6	Temperatura mínima del mes más frío	*10 °C
Bio7	Rango anual de temperatura (BIO5 - BIO6)	*10 °C
Bio8	Temperatura media del trimestre más húmedo	*10 °C
Bio9	Temperatura media del trimestre menos húmedo	*10 °C
Bio10	Temperatura media del trimestre más cálido	*10 °C
Bio11	Temperatura media del trimestre más frío	100000 * kg de agua/ kg de aire
Bio12	Humedad específica media anual	100000 * kg de agua/ kg de aire
Bio13	Humedad específica del mes más húmedo	100000 * kg de agua/ kg de aire
Bio14	Humedad específica del mes menos húmedo	100000 * kg de agua/ kg de aire
Bio15	Estacionalidad de la humedad específica (coeficiente de variación)	100000 * kg de agua/ kg de aire
Bio16	Humedad específica media del trimestre más húmedo	100000 * kg de agua/ kg de aire
Bio17	Humedad específica media del trimestre menos húmedo	100000 * kg de agua/ kg de aire
Bio18	Humedad específica media del trimestre más cálido	100000 * kg de agua/ kg de aire
Bo19	Humedad específica media del trimestre más frío	100000 * kg de agua/ kg de aire
Agua	Capacidad de agua disponible en el suelo (fracción volumétrica) hasta el punto de marchitamiento	Porcentaje
Carbono	Contenido de carbono orgánico del suelo en la fracción de tierra fina	Por mil
Arcilla	Proporción de partículas de arcilla (< 0,002 mm) en la fracción de tierra fina	Porcentaje
Densidad	Densidad aparente de la fracción de tierra fina	kg/m ³
Nitrógeno	Nitrógeno total (N)	g/kg
Arena	Proporción de partículas de arena (> 0,05/0,063 mm) en la fracción de tierra fina	Porcentaje
Limo	Proporción de partículas de limo (≥ 0,002 mm y ≤ 0,05/0,063 mm) en la fracción de tierra fina	Porcentaje
pH	Índice de pH medido en solución acuosa	pH

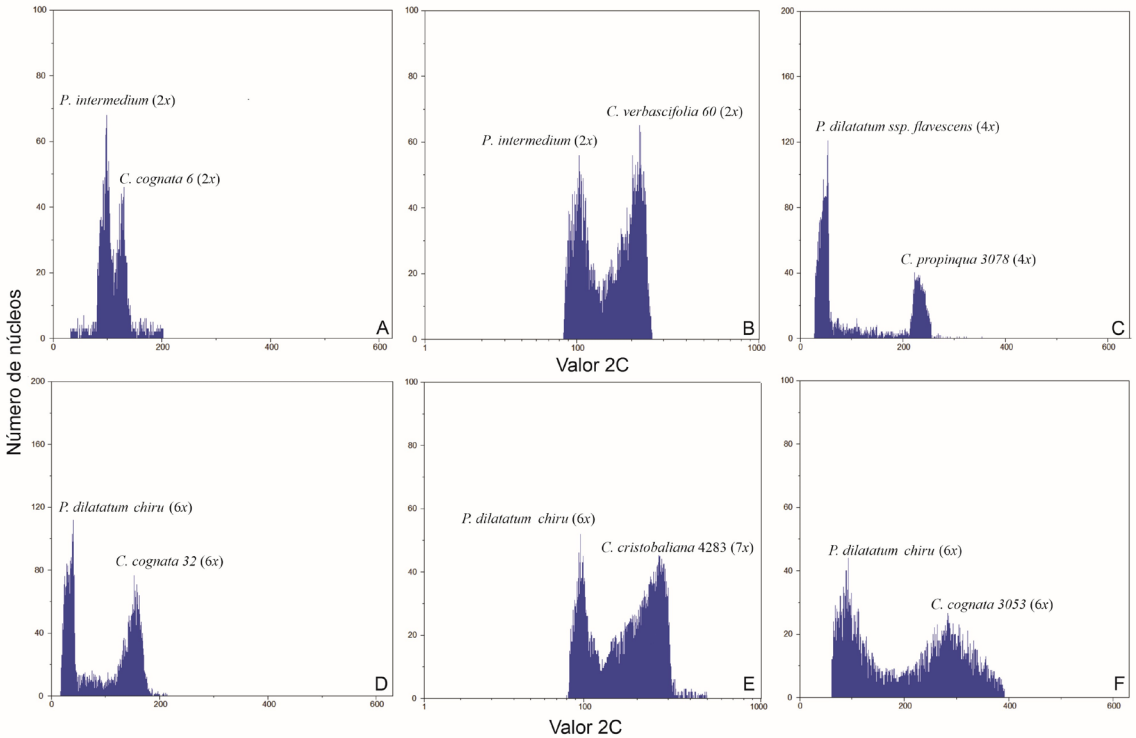


Fig. 2. Histogramas de fluorescencia de evaluaciones del tamaño del genoma mediante citometría de flujo de poblaciones de *Chrysolaena*. A. *C. cognata* 6 (diploide, 2C= 1,82pg). B. *C. verbascifolia* 60 (diploide, 2C= 2,71pg). C. *C. propinqua* 3078 (tetraploide, 2C= 9,05pg). D. *C. cognata* 32 (hexaploide, 2C= 14,69pg). E. *C. cristobaliana* 4283 (heptaploide, 2C= 9,41pg). F. *C. cognata* 3053 (octoploide, 2C= 12,27pg). Patrón estandar *Paspalum intermedium* (diploid, 2C= 1,48 pg) (A, B), *P. dilatatum* ssp. *flavescens* (tetraploide, 2C= 2,43 pg) (C), y *P. dilatatum* var. *chiru* (hexaploide, 2C= 3,57 pg) (D, E, F).

poblaciones diploides (2C= 1,82-5,06 pg); el grupo 2 comprende los tetraploides (2C= 5,14-9,05 pg); el grupo 3 está formado por una superposición de los hexaploides y los únicos citotipos heptaploide y octoploide (2C= 7,77-14,69 pg).

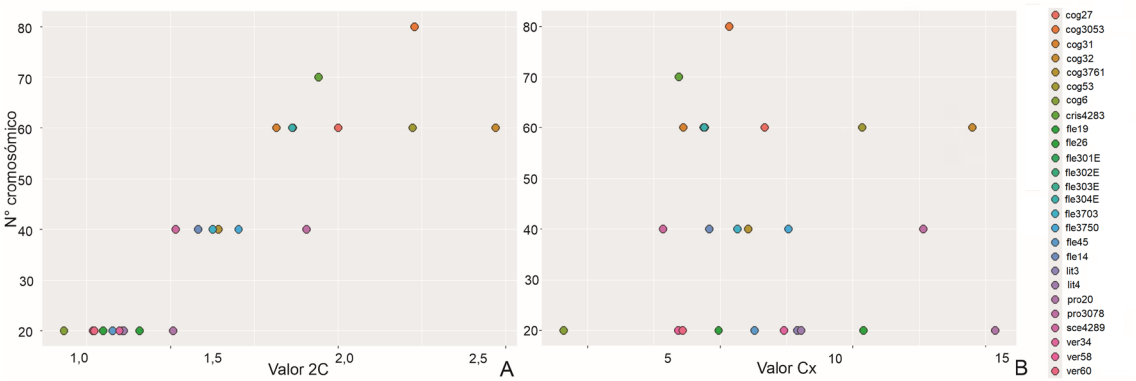


Fig. 3. Diagramas de dispersión mostrando la relación entre tamaño del genoma (2C y Cx) y números cromosómicos en especies de *Chrysolaena*. A. Diagrama mostrando la relación entre el valor 2C y los números cromosómicos. B. Diagrama mostrando la relación entre el valor Cx y los números cromosómicos. Los códigos de las poblaciones de las especies se detallan en la Tabla 1.

Cuando se relaciona el valor de Cx con el número cromosómico se observa que, en general, las poblaciones analizadas presentan valores promedio de Cx similares. Se observó una tendencia de aumento del genoma monoploide entre diploides y tetraploides, y luego una disminución entre niveles de ploidía más altos (6x, 7x y 8x) (Fig. 3B).

Las poblaciones con número cromosómico desconocido mostraron un rango de variación entre 2,934 pg (*pro54*) y 14,682 pg (*cog32*).

El análisis de correlación de Pearson reveló que el contenido de ADN 2C tiene una correlación muy alta con el número cromosómico ($r = 0,89$, $p < 0,05$) y muy baja con las demás variables consideradas (latitud, variables climáticas y edáficas) (Fig. 4).

Se encontró una asociación significativa ($R^2 = 0,79$, $< 0,001$) entre el contenido de ADN y el número de cromosomas (Fig. 5). La ecuación de regresión lineal obtenida para hacer las estimaciones es: Y (número de cromosomas) = $6,59 + 5,16 X$ contenido de ADN nuclear, pg/2C). En base a esta fórmula se predijo el potencial número cromosómico

de las entidades en las cuales no se tenía esta información (Tabla 1).

Discusión

Los resultados del trabajo mostraron que los diferentes tamaños genómicos estimados en *Chrysolaena* (entre 1,82 y 14,69 pg) se encuentran entre los valores encontrados para las Asteraceae (Garnatje *et al.*, 2004, 2011; Olšovská *et al.*, 2012), incluyendo especies de Vernoniaceae (Angulo & Dematteis, 2013).

Los aumentos en el valor 2C están relacionados con los aumentos de los números cromosómicos/niveles de ploidía. La correlación entre el aumento de la ploidía y el tamaño genómico es un fenómeno común en numerosos taxones (Leitch & Leitch, 2013). Dentro de la familia Asteraceae, dicha relación ha sido documentada en los géneros *Tripleurospermum* (García *et al.*, 2005), *Lessingianthus* (Angulo & Dematteis, 2013), *Centaurea* (Siljak-Yakovlev *et al.*, 2005) y *Artemisia*. (Oliva Brañas & Vallès, 1994; Torrell *et al.*, 1999; Torrell & Vallès, 2001).

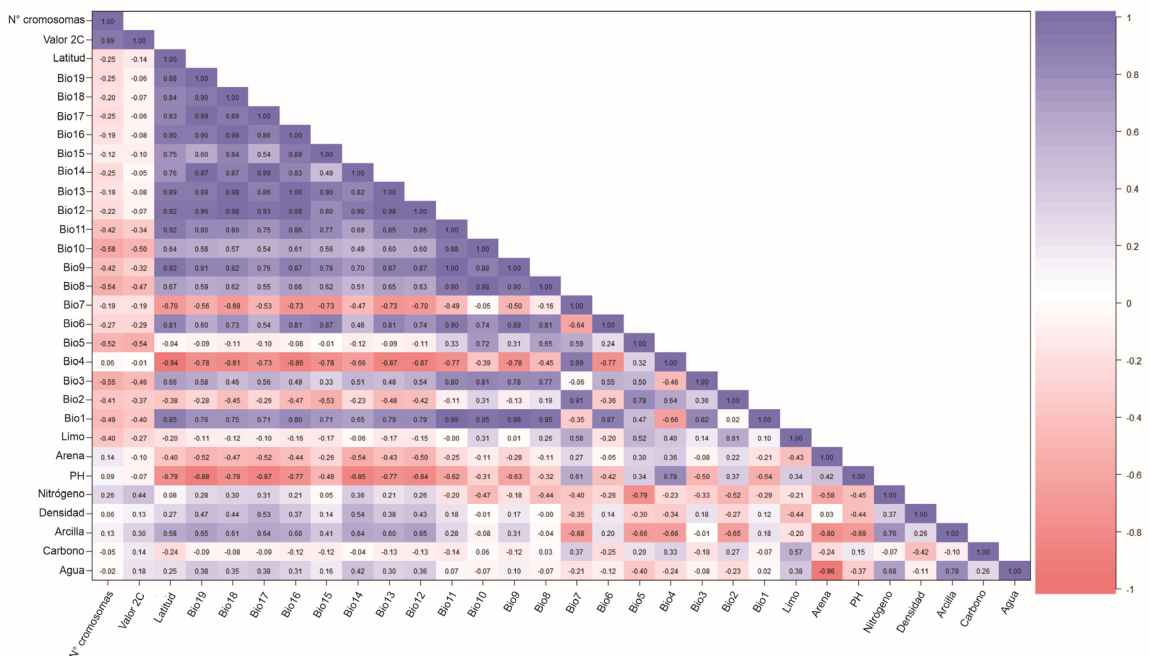


Fig. 4. Matriz de correlación de Pearson ($r = 0,7$) entre el contenido de ADN 2C, números cromosómicos, latitud, variables bioclimáticas y edáficas.

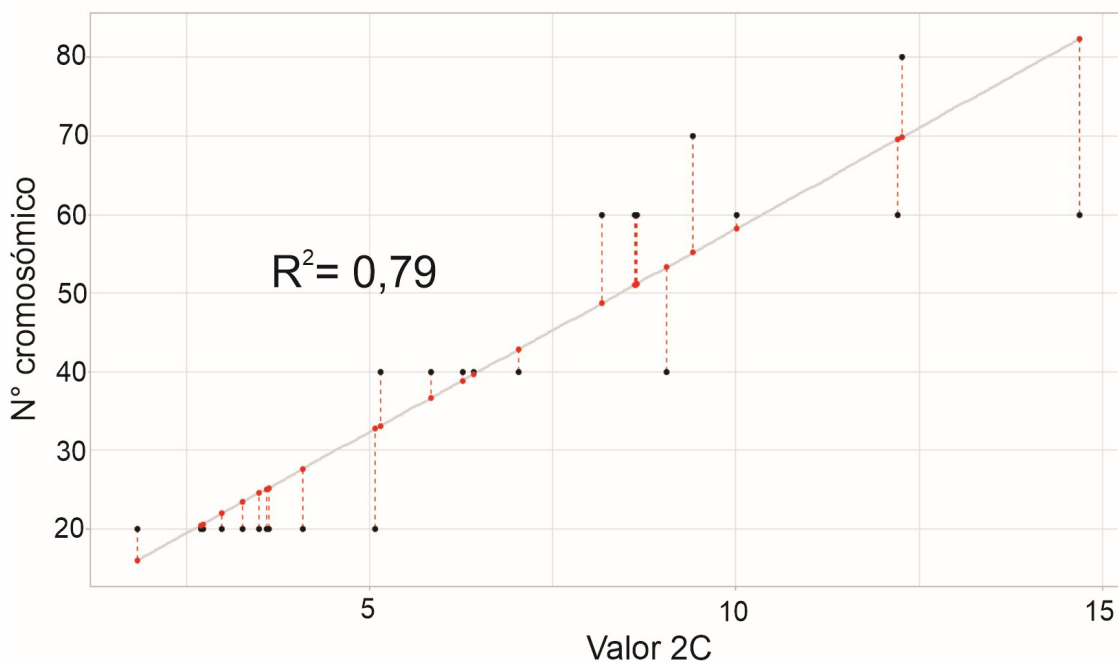


Fig. 5. Representación gráfica de la ecuación de regresión simple para la relación entre el valor 2C y los números cromosómicos. Se representa la línea de regresión estimada. Los puntos negros representan los valores observados. Los puntos rojos representan la predicción del modelo. Las líneas punteadas rojas representan los residuos.

Con respecto al valor Cx, se observó una ligera tendencia de aumento de este valor a medida que aumenta el nivel de ploidía y luego una reducción en las poblaciones con mayores niveles de ploidía (7x y 8x). La disminución en el valor Cx cuando el nivel de ploidía aumenta es una tendencia común y se ha registrado en otros géneros de Compuestas (García *et al.*, 2005; Garnatje *et al.*, 2006; Angulo & Dematteis, 2013). Sin embargo, en *Lessingianthus* (Angulo & Dematteis, 2013) también se observó que en algunas especies el valor Cx aumenta a medida que aumenta el nivel de ploidía, como se registró en *Chrysolaena*.

Existen diversos mecanismos que producen variaciones en el tamaño del genoma, tanto a nivel cromosómico como molecular (Bennett & Smith, 1976). Estos aumentos se producen predominantemente mediante la poliploidía y la amplificación de ADN no codificante, principalmente de elementos transponibles. Otros mecanismos incluyen la ganancia cromosómica, la presencia de cromosomas

supernumerarios o sexuales y la amplificación de ADN satélite, intrones y pseudogenes. Estos mecanismos que aumentan el tamaño del genoma a veces se compensan con procesos que generan una disminución del mismo. Entre ellos se encuentra la pérdida de cromosomas completos, la recombinación ilegítima, la recombinación homóloga desigual o una alta tasa de eliminación de nucleótidos durante la inserción (Devos *et al.*, 2002; Bennetzen & Kellogg, 1997; Bennett & Leitch, 2005; Leitch & Leitch, 2008; Dušková *et al.*, 2010). Por otro lado, aunque la poliploidía es un evento que generalmente produce un aumento en el tamaño del genoma, a largo plazo puede estar sujeta a diferentes presiones de selección en diferentes grupos de plantas. En las angiospermas, si bien el tamaño del genoma aumenta inmediatamente después de un evento de poliploidización, numerosos estudios han demostrado que, con el tiempo, se acompaña de una disminución del mismo (Kellogg & Bennetzen, 2004; Leitch & Bennett, 2004; Angulo & Dematteis, 2013). Esto se ha interpretado como un mecanismo

de equilibrio para reducir algunos efectos nucleotípicos debido a la ganancia de ADN por poliploidía (Bennett, 1972; Dimitrova & Greilhuber, 2000). Los poliploides suelen tener valores de Cx menores que sus diploides relacionados (Leitch & Bennett, 2004; Garcia *et al.*, 2005). *Chrysolaena*, presenta una gran complejidad citogenética siendo la poliploidía un fenómeno importante en la historia evolutiva del género que dio origen a la variabilidad de citotipos que se encuentran entre especies e incluso dentro de la misma especie (Via do Pico & Dematteis, 2013; Via do Pico *et al.*, 2019). En los resultados de los estudios citogenéticos se registraron fenómenos como la presencia de cromosomas B y heteromorfismo cromosómico (Via do Pico & Dematteis, 2013). Además, el análisis del comportamiento meiótico reveló la ocurrencia de numerosas irregularidades durante la división (Via do Pico & Dematteis, 2013). Teniendo en cuenta estos antecedentes, junto con los resultados del análisis realizado aquí, podemos concluir que las tendencias evolutivas en el tamaño del genoma de las especies de *Chrysolaena* abarcan tanto aumentos como disminuciones y que la poliploidía sería el principal mecanismo que genera aumentos en el contenido de ADN genómico. Por otro lado, es necesario considerar que algunas entidades pueden ser poliploides recientes y que aún no se ha observado una reducción sustancial del contenido de ADN nuclear, como lo indica la tendencia (Kellogg & Bennetzen, 2004; Leitch & Bennett, 2007). Situaciones similares de aumento y disminución del tamaño del genoma se han registrado en otros géneros de Asteraceae como *Artemisia* L. (Pellicer *et al.*, 2007), *Centaurea* L. (Bancheva & Greilhuber, 2006) y *Hieracium* L. (Chrtek *et al.*, 2009), y dentro de Vernonieae, en *Lessingianthus* (Angulo & Dematteis, 2013). Dada la complejidad citogenética de *Chrysolaena*, es probable que estén actuando múltiples mecanismos de aumento y disminución del tamaño del genoma, lo que lleva a las fluctuaciones observadas.

De acuerdo con la teoría del nucleotipo, algunos de los cambios en el contenido de ADN implican pérdida o ganancia de secuencias repetitivas de ADN y que estas ganancias o

pérdidas están asociadas con la adaptación a condiciones ambientales cambiantes. Según Rees (1984), los cambios en el contenido de ADN (no atribuibles a aneuploidía o pérdidas de brazos cromosómicos) pueden ocurrir de dos maneras: por cambio proporcional del tamaño de los cromosomas (Brandham & Doherty, 1998; Naranjo *et al.*, 1998; Poggio *et al.*, 2007) o por la adición o sustracción desigual de ADN de cada cromosoma, independientemente del tamaño de los cromosomas (Raina & Rees, 1983; Pringle & Murray, 1993; Raina *et al.*, 1994). Los resultados del presente estudio revelaron variación intraespecífica en algunos taxones de *Chrysolaena*, como en las poblaciones hexaploides de *C. cognata* y los diploides de *C. flexuosa* y *C. verbascifolia*. Probablemente, estas variaciones en el contenido genómico se deban a cambios proporcionales en el tamaño de los cromosomas, ya que estudios previos demostraron que los cariotipos de las especies presentan una morfología bastante constante (cariotipos formados por cromosomas metacéntricos y submetacéntricos) (Via do Pico & Dematteis, 2013). Sin embargo, se debería analizar un mayor número de especímenes para verificar si estas variaciones responden a factores relacionados con la técnica o están asociadas a otras causas relacionadas con las condiciones ambientales, como se ha propuesto.

En la actualidad, las nuevas tecnologías y los nuevos desafíos relacionados con la conservación de la biodiversidad y el cambio climático, han impulsado el desarrollo de bases de datos de biodiversidad a distintos niveles geográficos (mundiales, regionales, nacionales, etc.) (Ball-Damerow *et al.*, 2019; Feng *et al.*, 2022). El objetivo de estas bases de datos es obtener un acceso rápido y ordenado a información sobre especies. La aplicación de los estudios realizados a partir de bases de datos es útil para aconsejar a los gestores, informar al público y respaldar la planificación y la toma de decisiones para la conservación de la biodiversidad (Castro, 2016). La falta de conocimiento y de acceso a estos datos dificulta la evaluación del estado de la biodiversidad (Andréfouët *et al.*, 2008; Ash *et al.*, 2009). Por otro lado, estas bases de datos permiten identificar los vacíos de información,

ya sea a nivel geográfico, taxonómico, metodológico, entre otros. De acuerdo a este enfoque y a esta nueva demanda de información, no deben subestimarse estudios como los que presentamos en este trabajo, en los cuales se aporta información de base para complementar las bases de datos de biodiversidad. Los resultados de este trabajo aportan al conocimiento del tamaño del genoma de un grupo taxonómico de importancia en América del Sur. Se debe continuar el esfuerzo para obtener estimaciones del contenido de ADN nuclear de las demás especies de *Chrysoalea*.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los revisores por sus valiosos comentarios y sugerencias, los cuales mejoraron y fortalecieron el artículo. Este trabajo fue financiado por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste (SGCyT-UNNE, PI 2010/A002).

Bibliografía

- ANDRÉFOUËT, S., COSTELLO, M. J., FAITH, D. P., FERRIER, S., GELLER, G. N. & HÖFT, R. (2008). The GEO Biodiversity Observation Network Concept Document. Geneva.
- ANGULO, M. B. & DEMATTEIS, M. (2013). Nuclear DNA content in some species of *Lessingianthus* (Vernonieae, Asteraceae) by flow cytometry. *Journal of Plant Research* 126: 461-468. <https://doi.org/10.1007/s10265-012-0539-x>
- ASH, N., JÜRGENS, N., LEADLEY, P., ALKEMADE, R., ARAÚJO, M. B. & ASNER, G. P. (2009). bioDISCOVERY: Assessing, Monitoring and Predicting Biodiversity.
- BAACK, E. J., WHITNEY, K. D. & RIESEBERG, L. H. (2005). Hybridization and genome size evolution: timing and magnitude of nuclear DNA content increases in *Helianthus* homoploid hybrid species. *New Phytologist* 167: 623-630. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01433.x>
- BANCHEVA, S. & GREILHUBER, J. (2006). Genome size in Bulgarian *Centaurea s.l.* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 257: 95-117. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0384-7>
- BENNETT, M. D. (1972). Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 181: 109-135. <https://doi.org/10.1098/rspb.1972.0042>
- BENNETT, M. D., BHANDOL, P. & LEITCH, I. J. (2000). Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses-807 new estimates. *Annals of Botany* 86: 859-909. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1253>
- BENNETT, M. D. & SMITH, J. B. (1976). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 274: 227-274. <https://doi.org/10.1098/rstb.1976.0044>
- BENNETT, M. D. & LEITCH, I. J. (2005). Nuclear DNA Amounts in Angiosperms: Progress, Problems and Prospects. *Annals of Botany* 95: 45-90. <https://doi.org/10.1093/aob/mci003>
- BENNETT, M. D. & LEITCH, I. J. (2011). Nuclear DNA amounts in angiosperms -targets, trends and tomorrow. *Annals of Botany* 107: 467-590. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq258>
- BENNETZEN, J. L. & KELLOGG, E. A. (1997). Do plants have a one-way ticket to genomic obesity? *Plant Cell* 9: 1509-1514. doi: 10.1105/tpc.9.9.1509
- BOTTINI, M. C. J., GREIZERSTEIN, E. J., AULICINO, M. B. & POGGIO, L. (2000). Relationships among genome size, environmental conditions and geographical distribution in natural populations of NW Patagonian Species of *Berberis* L. (Berberidaceae). *Annals of Botany* 86: 565-573. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1218>
- BRANDHAM, P. E. & DOHERTY, M. J. (1998). genome size variation in the Aloaceae, an Angiosperm family displaying karyotypic orthoselection. *Annals of Botany* 82 (A): 67-73. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0742>
- BUREŠ, P., PAVLÍČEK, T., HOROVÁN, L. & NEVO, E. (2004). Microgeographic genome size differentiation of the carob tree, *Ceratonia siliqua*, at 'Evolution Canyon', Israel. *Annals of Botany* 93: 529-535. <https://doi.org/10.1093/aob/mch074>
- BUREŠ, P., OZCAN, M., ŠMERDA, J., MICHÁLKOVÁ, E., HOROVÁ, L., PLAČKOVÁ, K., ŠMARD, P., ELLIOTT, T. L., VESELÝ, P., ČATO, S.,... *et al.* (2023). Evolution of genome size and GC content in the tribe Carduinae (Asteraceae): rare descending dysploidy and polyploidy, limited environmental control and strong phylogenetic signal. *Preslia* 95: 185-213. <https://doi.org/10.23855/preslia.2023.185>

- BUREŠ, P., ELLIOTT, T. L., VESELÝ, P., ŠMARD, P., FOREST, F., LEITCH, I. J., LUGHADHA, E.N., SOTO GOMEZ, M., PIRONON, S., BROWN, M. J. M., ŠMERDA, J. & ZEDEK, F. (2024). The global distribution of angiosperm genome size is shaped by climate. *New Phytologist* 242: 744-759. <https://doi.org/10.1111/nph.19544>
- BURTON, T. & HUSBAND, B. (2001). Fecundity and offspring ploidy in matings among diploid, triploid and tetraploid *Chamerion angustifolium* (Onagraceae): consequences for tetraploid establishment. *Heredity* 87: 573-582. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00955.x>
- CANHOS, V. P., SOUZA, S., & CANHOS, D. A. L. (2004). Global biodiversity informatics: Setting the scene for a “new world” of ecological modeling. *Biodiversity Informatics* 1: 1-13.
- CASTRO, B. M. (2016). Base de datos de biodiversidad de la Comunidad de Madrid y su aplicación a estudios de flora y vegetación. Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas. Madrid, España. <https://hdl.handle.net/20.500.14352/26903>
- CHRTK, JR. J., ZAHRADNÍČEK, J., KRAK, K. & FEHRER, J. (2009). Genome size in *Hieracium* subgenus *Hieracium* (Asteraceae) is strongly correlated with major phylogenetic groups. *Annals of Botany* 104: 161-178. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp107>
- DE LAAT, A. M. A., GÖHDE, W. & VOGELZANG, M. J. D. C. (1987). Determination of ploidy of single plants and plant populations by flow cytometry. *Plant Breed* 99: 303-307. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1987.tb01186.x>
- DEMATTEIS, M. (2009). Revisión taxonómica del género sudamericano *Chrysolaena* (Vernonieae, Asteraceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 44: 103-170. Disponible en: <https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-23722009000100011&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-2372.
- DEVOS, K., BROWN, J. & BENNETZEN, J. (2002). Genome size reduction through illegitimate recombination counteracts genome expansion in *Arabidopsis*. *Genome Research* 12: 1075-1079. <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.132102>
- DIMITROVA, D. & GREILHUBER, J. (2000). Karyotype and DNA content in ten species of *Crepis* (Asteraceae) distributed in Bulgaria. *Journal of Linnean Society* 132: 281-297. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2000.tb01532.x>
- DOLEŽEL, J. & GÖHDE, W. (1995). Sex determination in dioecious plants *Melandrium album* and *M. rubrum* using high-resolution flow cytometry. *Cytometry* 19: 103-106. <https://doi.org/10.1002/cyto.990190203>
- DOLEŽEL, J., GREILHUBER, J., LUCRETTI, S., MEISTER, A., LYSÁK, M. A., NARDI, L. & OBERMAYER, R. (1998). plant genome size estimation by flow cytometry: Inter-laboratory comparison. *Annals of Botany* 82: 17-26. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a010312>
- DOLEŽEL, J., GREILHUBER, J. & SUDA, J. (2007). Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols* 2: 2233-2244. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.310>
- DUŠKOVÁ, E., KOLÁŘ, F., SKELENÁŘ, P., RAUCHOVÁ, J., KUBEŠOVÁ, M., FÉR, T., SUDA, J. & MARHOLD, K. (2010). Genome size correlates with growth form, habitat and phylogeny in the Andean genus *Lasiocephalus* (Asteraceae). *Preslia* 82: 127-148.
- ECHEVERRÍA, M. L. & CAMADRO, E. L. (2017). Chromosome numbers, meiotic abnormalities, and 2n pollen formation in accessions of the wild species *Chrysolaena flexuosa* (Vernonieae, Compositae) from its distribution range in Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 52: 737-752. Disponible en: <https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-23722017000400010&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-2372.
- ELLIOTT, T. L., ZEDEK, F., BARRETT, B., BRUHL, J., ESCUDERO, M., HROUDOVÁ, Z., JOLY, S., LARRIDON, I., LUCEÑO, M., Márquez-CORRO, J. I.,... *et al.* (2022). Chromosome size matters: genome evolution in the cyperid clade. *Annals of Botany* 130: 999-1014. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac136>
- FAIZULLAH, L., MORTON, J. A., HERSCH-GREEN, E. I., WALCZYK, A. M., LEITCH, A. R. & LEITCH, I. J. (2021). Exploring environmental selection on genome size in angiosperms. *Trends in Plant Science* 26: 1039-1049. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.06.001>
- FLORA E FUNGA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponible en: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Consulta: 27/11/2024
- FUNK, V. A., SUSANNA, A., STUESSY, T. F., BAYER, R. J. (eds.). (2009). *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*. Vienna: International Association for Plant Taxonomist.
- GALBRAITH, D. W., HARKIS, K. R., MADDOX, J. M., AYRES, N. M., SHARMA, D. P. & FIROOZABADY, E. (1983). Rapid flow cytometry analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science* 220: 1049-1051. <https://doi.org/10.1126/science.220.4601.1049>

- GARCIA, S., INCEER, H., GARNATJE, T. & VALLES, J. (2005). Genome size variation in some representatives of the genus *Tripleurospermum*. *Biologia Plantarum* 49: 381-387. <https://doi.org/10.1007/s10535-005-0011-z>
- GARCIA, S., LEITCH, I. J., ANADON-ROSELL, A., CANELA, M. A., GÁLVEZ, F., GARNATJE, T., GRAS, A., HIDALGO, O., JOHNSTON, E., DE XAXARS, G. M., PELLICER, J., SILJAK-YAKOVLEV, S., VALLÈS, J., VITALES, D. & BENNETT, M. D. (2014). Recent updates and developments to plant genome size databases. *Nucleic Acids Research* 42(D1): 1159-1166. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1195>
- GARNATJE, T., VALLÈS, J., GARCIA, S., HIDALGO, O., SANZ, M., CANELA, M. A. & SILJAK-YAKOVLEV, S. (2004). Genome size in *Echinops* L. and related genera (Asteraceae, Cardueae): karyological, ecological and phylogenetic implication. *Biology of the Cell* 96: 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.11.005>
- GARNATJE, T., GARCIA, S., VILATERSANA, R. & VALLÈS, J. (2006). Genome size variation in the genus *Carthamus* (Asteraceae, Cardueae): Systematic implications and additive changes during allopolyploidization. *Annals of Botany* 97: 461-467. <https://doi.org/10.1093/aob/mcj050>
- GARNATJE, T., CANELA, M. A., GARCIA, S., HIDALGO, O., PELLICER, J., SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, I., SILJAK-YAKOVLEV, S., VITALES, D. & VALLÈS, J. (2011). GSAD: a genome size database in the Asteraceae. *Cytometry Part A* 79A: 401-404. <http://doi.org/10.1002/cyto.a.21056>
- GASMANOVÁ, N., LEBEDA, A., DOLEZALOVÁ, I., COHEN, T., PAVLIČEK, T., FAHIMA, T. & NEVO, E. (2007). Genome size variation of *Lotus peregrinus* at Evolution Canyon I microsite, Lower Nahal Oren, Mt. Carmel, Israel. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 49: 39-46.
- GREILHUBER, J. (1998). Intraspecific variation in genome size: a critical reassessment. *Annals of Botany* 82(A): 27-35. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0725>
- GREILHUBER, J. (2005). Intraspecific variation in genome size in Angiosperms: identifying its existence. *Annals of Botany* 95: 91-98. <https://doi.org/10.1093/aob/mci004>
- GREILHUBER, J. & LEITCH, I. J. (2013). Genome size and the phenotype. En LEITCH, I. J., GREILHUBER, J., DOLEŽEL, J. & J. F. WENDEL (eds.), *Plant Genome Diversity Physical Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes*. Vol. 2, pp. 323-344. Springer Vienna, Austria.
- INGWERSEN, P. & CHAVAN, V. (2011). Indicators for the Data Usage Index (DUI): An incentive for publishing primary biodiversity data through global information infrastructure. *BMC Bioinformatics* (Suppl 15) (S3).
- KALENDAR, R., TANSKANEN, J., IMMONEN, S., NEVO, E. & SCHULMAN, A. H. (2000). 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 USA* 97: 6603-6607. <https://doi.org/10.1073/pnas.11058749>
- KEELEY, S. C. & ROBINSON, H. (2009). *Vernonieae*. En FUNK, V. A., SUSANNA, A., STUESSY, T. F. & R. J. BAYER (eds.), *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*, pp. 439-469: International Association for Plant Taxonomist, Vienna.
- KELLOGG, E. A. & BENNETZEN, J. L. (2004). The evolution of nuclear genome structure in seed plants. *American Journal of Botany* 91: 1709-1725. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.10.1709>
- KNIGHT, C. A. & ACKERLY, D. D. (2002). Variation in nuclear DNA content across environmental gradients: a quantile regression analysis. *Ecology Letters* 5: 66-76. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2002.00283.x>
- LEITCH, I. J. & BENNETT, M. D. (2004). Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 651-663. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2004.00349.x>
- LEITCH, I. J. & BENNETT, M. D. (2007). Genome size and its uses: the impact of flow cytometry. En DOLEŽEL, J., GREILHUBER, J. & J. SUDA (eds.), *Flow cytometry with plant cells*, pp. 153-176. WileyVCH, Weinheim.
- LEITCH, A. R. & LEITCH, I. J. (2008). Genomic plasticity and the diversity of polyploid plants. *Science* 320: 481-483. DOI: 10.1126/science.115358
- LEITCH, I. J. & LEITCH, A. R. (2013). Genome size diversity and evolution in land plants. En GREILHUBER, J., DOLEŽEL, J., WENDEL, J. F. & I. J. LEITCH (eds.), *Plant Genome Diversity Volume 2: Physical Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes*, pp. 307-322. Springer Vienna.
- LEITCH, I. J., JOHNSTON, E., PELLICER, J., HIDALGO, O., BENNETT, M. D. (2019). Angiosperm DNA C-values Database (Release 7.1). <https://cvalues.science.kew.org/>
- LIRA-NORIEGA, A., SOBERÓN, J., NAVARRO-SIGÜENZA, A. G.,...et al. (2007). Scale dependency of diversity components estimated from primary biodiversity data and distribution maps. *Diversity and Distributions* 13: 185-195. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2006.00304.x>

- MURRAY, B. G. (2005). When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant? *Annals of Botany* 95: 119-125. <https://doi.org/10.1093/aob/mci007>
- NARANJO, C. A., FERRARI, M. R., PALERMO, A. M. & POGGIO, L. (1998). Karyotype, DNA content and meiotic behavior in five South American species of *Vicia* (Fabaceae). *Annals of Botany* 82: 757-764. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0744>
- OLIVA BRAÑAS, M. & VALLÈS, J. (1994). Karyological studies in some taxa of the genus *Artemisia* L. (Asteraceae). *Canadian Journal of Botany* 72: 1126-1135. <https://doi.org/10.1139/b94-138>
- OLŠAVSKÁ, K., PERNÝ, M., Španiel, S. & Šingliarová, B. (2012). Nuclear DNA content variation among perennial taxa of the genus *Cyanus* (Asteraceae) in Central Europe and adjacent areas. *Plant Systematics and Evolution* 298: 1463-1482. <https://doi.org/10.1007/s00606-012-0650-4>
- OHRI, D. (1998). Genome size variation and plant systematics. *Annals of Botany* 82: 75-83. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0765>
- PAVLIČEK, T., BUREŠ, P., HOROVÁ, L., RASKINA, O. & NEVO, E. (2008). Genome size microscale divergence of *Cyclamen persicum* in Evolution Canyon, Israel. *Central European Journal of Biology* 3: 83-90. <https://doi.org/10.2478/s11535-007-0043-9>
- PELLICER, J., GARCIA, S., GARNATJE, T., DARIIMA, S., KOROBKOV, A. A. & VALLÈS, J. (2007). Chromosome numbers in some *Artemisia* (Asteraceae, Anthemideae) species and genome size variation in its subgenus *Dracunculus*: karyological, systematic and phylogenetic implications. *Chromosome Botany* 2: 45-53. <https://doi.org/10.3199/iscb.2.45>
- POGGIO, L., GONZÁLEZ, G. & NARANJO, C. A. (2007). Chromosome Studies in *Hippeastrum* (Amaryllidaceae): variation in genome size. *Botanical Journal of Linnean Society* 155: 171-178. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2007.00645.x>
- POGGIO, L., DE SOUS, M., BATJE, N. H., HEUVELINK, G. B. M., KEMPEN, B., RIBEIRO, E. & ROSSITER, D. (2021). SoilGrids 2.0: producing soil information for the globe with quantified spatial uncertainty. *Soil* 7: 217-240. <https://doi.org/10.5194/soil-7-217-2021>
- PRINGLE, G. J. & MURRAY, B. G. (1993). Karyotypes and C-banding patterns in species of *Cyphomandra* Mart. ex Sendtner (Solanaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 111: 331-342. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1993.tb01907.x>
- R CORE TEAM (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.
- RAINA, S. N. & REES, H. (1983). DNA variation between and within chromosome complements of *Vicia* species. *Heredity* 51: 335-346. <https://doi.org/10.1038/hdy.1983.38>
- RAINA, S. N., PARIDA, A., KOUL, K. K., SALIMATH, S. S., BISHT, M. S., RAJA, V. & KHOSHOO, T. N. (1994). Associated chromosomal DNA changes in polyploids. *Genome* 37: 560-564. <https://doi.org/10.1139/g94-080>
- REES, H. (1984). Nuclear DNA variation and the homology of chromosomes. En GRANT, W. F. (ed.), *Plant biosystematics*, pp. 87-96. Academic Press, Toronto.
- ROBINSON, H. (1988). Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae). V. The new genus *Chrysolaena*. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 100: 952-958.
- ROBINSON, H. (1999). Generic and subtribal classification of American Vernonieae. *Smithsonian Contributions of Botany* 89: 1-116.
- SILJAK-YAKOVLEV, S., SOLIC, M. E., CATRICE, O., BROWN, S. C. & PAPES, D. (2005). Nuclear DNA content and chromosome number in some diploid and tetraploid *Centaurea* (Asteraceae: Cardueae) from the Dalmatia Region. *Plant Biology* 397-404. <https://doi.org/10.1055/s-2005-865693>
- SLOVÁK, M., VÍT, P., URFUS, T. & SUDA, J. (2009). Complex pattern of genome size variation in a polymorphic member of the Asteraceae. *Journal of Biogeography* 36: 372-384. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.02005.x>
- ŠMARDÁ, P. & BUREŠ, P. (2006). Intraspecific DNA content variability in *Festuca pallens* on different geographical scales and ploidy levels. *Annals of Botany* 98: 665-678. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl150>
- ŠMARDÁ, P., BUREŠ, P. & HOVROVÁ, L. (2007). Random distribution pattern and non-adaptivity of genome size in a highly variable population of *Festuca pallens*. *Annals of Botany* 100: 141-150. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm095>
- ŠMARDÁ, P., HOROVÁ, L., BUREŠ, P., HRALOVÁ, I. & MARKOVÁ, M. (2010). Stabilizing selection on genome size in a population of *Festuca pallens* under conditions of intensive intraspecific competition. *New Phytologist* 187: 1195-1204. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03335.x>
- ŠMARDÁ, P., KNÁPEK, O., BŘEZINOVÁ, A., HOROVÁ, L., GRULICH, V., DANIHELKA, J., VESELÝ, P., ŠMERDA,

- J., ROTREKLOVÁ, O. & BUREŠ, P. (2019). Genome sizes and genomic guanine+cytosine (GC) contents of the Czech vascular flora with new estimates for 1700 species. *Preslia* 91: 117-142. <https://doi.org/10.23855/preslia.2019.117>
- SOARES, P. N., GONÇALVES-ESTEVEZ, V., SEMIR, J. & NAKAJIMA, J. N. (2020). *Chrysolaena glandulosa* (Vernonieae, Asteraceae): a new species from Brazil. *Phytotaxa* 439: 295-300. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.439.3.11>
- SUDA, J., KRAHULCOVÁ, A., TRÁVNÍČEK, P., ROSENBAUMOVÁ, R., PECKERT, T., KRAHULEC, F. (2007). Genome size variation and species relationships in *Hieracium* sub-genus *Pilosella* (Asteraceae) as inferred by flow cytometry. *Annals of Botany* 100: 1323-1335. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm218>
- TORRELL, M., BOSCH, M., MARTÍN, J. & VALLÈS, J. (1999). Cytogenetic and isozymic characterization of the narrow endemic species *Artemisia molinieri* Quézel, Barbero & R. Loisel (Asteraceae, Anthemideae); implications for its systematics and conservation. *Canadian Journal of Botany* 77: 1-10. <https://doi.org/10.1139/b98-193>
- TORRELL, M. & VALLÈS, J. (2001). Genome size in 21 *Artemisia* L. species (Asteraceae, Anthemideae): Systematic, evolutionary and ecological implications. *Genome* 44: 231- 238. <https://doi.org/10.1139/g01-004>
- VALDECASAS, A. G. & CAMACHO, A. (2003). Conservation to the rescue of taxonomy. *Biodiversity and Conservation* 12: 1113-1117. <https://doi.org/10.1023/A:1023082606162>
- VEGA, A. J. & DEMATTEIS, M. (2016). Cytotaxonomy of some species of *Vernonanthura* and *Vernonia* (Asteraceae, Vernonieae) from South America. *Caryologia* 69: 29-37. <https://doi.org/10.1080/00087114.2015.1109937>
- VEGA, G. C., PERTIERRA, L. R. & OLALLA-TÁRRAGA, M. A. (2018). Data from: MERRAclim, a high-resolution global dataset of remotely sensed bioclimatic variables for ecological modelling [Dataset]. Dryad. <https://doi.org/10.5061/dryad.s2v81>
- VIA DO PICO, G. M. (2015) Estudios biosistemáticos en especies del género *Chrysolaena* (Vernonieae, Asteraceae). Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 285 pp.
- VIA DO PICO, G. M. & DEMATTEIS, M. (2012). Chromosome number, meiotic behavior and pollen fertility of six species of *Chrysolaena* (Vernonieae, Asteraceae). *Caryologia* 65: 176-181. <https://doi.org/10.1080/00087114.2012.726506>
- VIA DO PICO, G. M. & DEMATTEIS, M. (2013). Karyotype analysis and DNA content in some species of *Chrysolaena* (Vernonieae, Asteraceae). *Plant Biosystems* 147: 864-873. <https://doi.org/10.1080/11263504.2012.751068>
- VIA DO PICO, G. M. & DEMATTEIS, M. (2014). Cytotaxonomy of two species of genus *Chrysolaena* H. Robinson, 1988 (Vernonieae, Asteraceae) from Northeast Paraguay. *Comparative Cytogenetics* 8: 125-137. <https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v8i2.7209>
- VIA DO PICO, G. M. & DEMATTEIS, M. (2017). Meiotic behaviour and B chromosomes in Argentine populations of *Chrysolaena verbascifolia* (Vernonieae: Asteraceae). *Webbia* 72: 139-147. <https://doi.org/10.1080/00837792.2016.1260881>
- VIA DO PICO, G. M., PÉREZ, Y. J., ANGULO, M. B. & DEMATTEIS, M. (2019). Cytotaxonomy and geographic distribution of cytotypes of species of the South American genus *Chrysolaena* (Vernonieae, Asteraceae). *Journal of Systematics and Evolution* 57: 451-467. <https://doi.org/10.1111/jse.12471>
- WALKER, D. J. MOÑINO, I. & CORREAL, E. (2006). Genome size in *Bituminaria bituminosa* (L.) C.H. Stirton (Fabaceae) populations: separation of “true” differences from environmental effects on DNA determination. *Environmental and Experimental Botany* 55: 258-265. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.11.005>
- WICKHAM, H. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org/>.