



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FÍSICAS Y NATURALES

Estudios cariotípicos en cactus epífitos de Argentina (Tribus Hylocereeae y Rhipsalideae)

Lic. Natalia Cecilia Moreno

Tesis para optar al grado de Dra. en Ciencias Biológicas



Dr. Gabriel Bernardello
Director

Dr. Roberto Kiesling
Co - director

IMBIV
CONICET-UNC
Córdoba 2014



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS EXÁCTAS, FÍSICAS Y NATURALES

Estudios cariotípicos en cactus epífitos de Argentina (Tribus Hylocereeae y Rhipsalideae)

Lic. Natalia Cecilia Moreno

Tesis para optar al grado de Dra. en Ciencias Biológicas

Dr. Gabriel Bernardello

Director

Dr. Roberto Kiesling

Co-director

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal

CONICET - UNC

Córdoba, Argentina

2014

COMISIÓN ASESORA

Dr. Gabriel Bernardello, IMBIV, Córdoba.

Dr. Aveliano Fernández, IBONE, Corrientes.

Dra. Ma. Laura Las Peñas, IMBIV, Córdoba.

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

a mis Padres por la libertad

*Hay gente que con solo decir una palabra
enciende la ilusión y los rosales,
que con sólo sonreír entre los ojos
nos invita a viajar por otras zonas,
nos hace recorrer toda la magia.*

[..]

...hay gente que es así, tan necesaria.

Hamlet Lima Quintana

Deseo expresar mi agradecimiento a mis directores Dr Bernardello y Dr. Kiesling, por su apoyo, acompañamiento y dedicación. A los miembros de la Comisión Asesora, el Doctorado, IMBIV y Museo Botánico que posibilitaron de diversas formas la realización de este trabajo, así como también a los organismos públicos que lo financiaron.

¡Gracias!

A Leonardo, porque el camino siempre es mejor si lo transitamos juntos.

A Laura Stiefkens y Laura Las Peñas por haberme enseñado, compartido, escuchado. A mis compañeros de laboratorio por los mates, historias, viajes, cantos compartidos.

A toda mi familia por su apoyo incondicional.

A los amigos que aguantan, acompañan, escuchan y contienen en todo momento.

A todas las personas que contribuyeron con material para realizar este trabajo especialmente a Franco Chiarini que además cedió sus fotografías.

A mi profesor de Botánica, Dr. Amat, por sus consejos que posibilitaron que hoy pueda estar aquí.

ÍNDICE

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	13
MATERIALES & MÉTODOS	14
I. Especies estudiadas	14
II. Pretratamiento, fijación y preparaciones cromosómicas	14
III. Tinción convencional	18
IV. Bandeo fluorescente CMA/DAPI	18
V. Doble hibridación <i>in situ</i> fluorescente	19
VI. Adquisición de imágenes	20
VII. Análisis morfométrico de los cromosomas	21
VIII. Análisis estadístico	23
IX. Evolución de caracteres cromosómicos	25
RESULTADOS	27
I. Número cromosómico	27
II. Cariotipos	27
III. Asimetría cariotípica	31
IV. Bandeo fluorescente CMA/DAPI	31
V. Hibridación <i>in situ</i> fluorescente	38
VI. Análisis estadístico	40
VII. Evolución de caracteres cromosómicos	51
DISCUSIÓN	55
I. Número cromosómico y poliploidía	55
II. Características cariotípicas	57
III. Heterocromatina: composición, localización y contenido	60
IV. Genes ribosómicos: número y localización	62
V. Modelo de evolución cromosómica en <i>Lepismium</i> (Rhipsalideae)	65
VI. Cactáceas epífitas y sus cariotipos	66
CONCLUSIONES	68

ANEXOS	70
Anexo I: Datos cromosómicos de los taxones estudiados.....	70
Anexo II: Matriz empleada para el ANAVA	75
Anexo III: Matriz empleada para el análisis de conglomerados	77
Anexo IV: Alineamiento de secuencias y análisis filogenético	78
Anexo V: Matriz de caracteres discretos	83
Anexo VI: Reconstrucción de caracteres ancestrales por Máxima Verosimilitud	85
BIBLIOGRAFÍA	89

RESUMEN

En Argentina habitan 14 taxones epífitos de Cactaceae, los cuales se agrupan en tres linajes independientes de la subfamilia Cactoideae: Hylocereinae, Rhipsalideae y el género *Pfeiffera*. Se estudiaron los cromosomas mitóticos en 53 muestras de cactus epífitos, pertenecientes a *Epiphyllum phyllanthus*, *Selenicereus setaceus*, las seis especies de *Lepismium*, tres de *Rhipsalis* y dos de *Pfeiffera* mediante técnicas de tinción convencional, bandeo cromosómico fluorescente e hibridación *in situ* fluorescente de ambos genes ribosomales (18-5,8-26S y 5S). A excepción del tetraploide *Selenicereus setaceus* ($2n = 44$), todos los taxones fueron diploides ($2n = 22$). El número básico fue $x = 11$ como en los restantes miembros conocidos de la familia. Los cromosomas resultaron similares entre todos los taxones estudiados, tanto en morfología (m) como en tamaño ($1,24 - 3,09 \mu\text{m}$). Se identificó un único tipo de heterocromatina rica en pares de bases CG, siempre asociada a las constricciones secundarias. Excepcionalmente, *L. lorentzianum* presentó un par de bandas $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ en la región paracentromérica del brazo corto del par cromosómico 2. El gen ribosómico 18-5,8-26S se localizó en la constricción secundaria del cromosoma de mayor tamaño y el número de locus se corresponde con el nivel de ploidía en todo los casos. Las características cariotípicas de los cactus epífitos estudiados, tanto en la simetría cromosómica, la localización y tipo de heterocromatina, como la ubicación y número del gen ribosomal 18-5,8-26S, concordaron con las de otras Cactáceas anteriormente estudiadas. El patrón de distribución del gen ribosómico 5S fue variable entre los diferentes linajes epífitos. En las especies diploides de Hylocereinae, las especies de *Rhipsalis* y tres miembros de *Lepismium* se localizó un único locus 5S, mientras que en ambos miembros de *Pfeiffera* y los restantes representantes de *Lepismium* presentaron dos loci. En *L. lorentzianum* y *L. warmingianum*, uno de los loci 5S es sinténico con el gen ribosomal 18-5,8-26S. Se propuso un modelo de cambio cromosómico para *Lepismium* involucrando dos duplicaciones/translocaciones independientes del gen 5S. En el tetraploide *S. setaceus* se encontraron cinco loci del gen 5S: dos paracentroméricos, dos distales y uno sinténico a un locus 18-5,8-26S. La diversificación en los linajes epífitos de Cactaceae aparentemente estuvo acompañada por algunas variaciones estructurales que involucraron al gen ribosomal 5S; sin embargo, el gen 18-5,8-26S, el contenido y ubicación de la heterocromatina y la simetría cariotípica se mantienen conservados entre los miembros de Cactaceae estudiados.

ABSTRACT

Fourteen epiphytic Cactaceae taxa live in Argentina, which are grouped into three independent lineages of the subfamily Cactoideae: Hylocereinae, Rhipsalideae, and the genus *Pfeiffera*. Mitotic chromosomes were studied in 53 samples of epiphytic cacti belonging to *Epiphyllum phyllanthus*, *Selenicereus setaceus*, six species of *Lepismium*, three species *Rhipsalis*, and two species *Pfeiffera* by conventional staining techniques, fluorescent chromosome banding and fluorescence *in situ* hybridization of both ribosomal genes (18-5.8-26 S and 5S). With the exception of the tetraploid *Selenicereus setaceus* ($2n = 44$), all taxa were diploid ($2n = 22$). The basic number $x = 11$ was found as in the studied members of the family. Chromosome morphology (m) and size ($1.24 - 3.09 \mu\text{m}$) were similar among all taxa. We identified only GC rich heterochromatin, always associated with the secondary constrictions. Exceptionally, *L. lorentzianum* had a pair of $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ paracentromeric bands on the short arm of chromosome pair #2. The 18-5.8-26S ribosomal gene was localized on the secondary constrictions of the longest chromosome pair, and their number agreed with the ploidy level in all cases. Karyotypic features of epiphytic cacti here studied were similar in chromosome symmetry, location, and type of heterochromatin and the location and number of 18-5.8-26S ribosomal gene to other examined members of Cacti. The location and number of the 5S ribosomal gene was variable among the different lineages, but was always placed in the paracentromeric region. In the diploid species of Hylocereinae, *Rhipsalis*, and three members *Lepismium* a single 5S locus was found, while both members of *Pfeiffera* and the remaining *Lepismium* presented two loci. In *L. lorentzianum* and *L. warmingianum*, one ribosomal 5S gene locus was syntenic with 18-5.8-26S. We proposed a model chromosome change for *Lepismium*, that involving two independent doublings/translocations of the 5S gene. In the tetraploid *S. setaceus* five 5S gene loci, two paracentromeric, two distal, and one syntenic to 18-5.8-26S locus were found. The diversification in epiphytic lineages of Cactaceae was apparently accompanied by some structural changes involving the ribosomal 5S gene, but the 18-5.8-26S gene, as well as karyotypic symmetry remains conserved among the explored members of Cactaceae.

INTRODUCCIÓN

Cactaceae Juss. es un grupo monofilético perteneciente al orden Caryophyllales (Wallace 1994, APG III 2009); estudios moleculares confirman su inclusión dentro del suborden Portulacineae; sin embargo, su relación con las otras familias miembros es poco clara (Ocampo & Columbus 2010 y trabajos allí citados). Esta familia comprende aproximadamente 1816 especies y 124 géneros (Hunt *et al.* 2006) cuya ocurrencia natural es exclusivamente americana, con excepción de *Rhipsalis baccifera* que se ha extendido naturalmente hacia los paleotrópicos (Barthlott 1983, Cota-Sánchez & Bomfin-Patricio 2010). Las Cactáceas se distribuyen desde el suroeste de Canadá (Speirs 1982) hasta el extremo sur de Argentina y Chile (Kiesling 1988), presentando tres grandes centros de diversidad y endemismo: la región central de la cordillera de los Andes peruano-bolivianos, el este de Brasil y el suroeste de Estados Unidos y México (Taylor & Zappi 2004). Si bien se trata de plantas típicas de regiones áridas y semiáridas, se encuentran bien representadas en selvas tropicales y en climas templados (Judd *et al.* 1999).

Estudios de datación de linajes proponen que Cactaceae se habría originado hace aproximadamente 35 millones de años (HersHKovitz & Zimmer 1997, Nyffeler 2002, Arakaki *et al.* 2011), probablemente en el noroeste de Sudamérica (Schumann 1899, Buxbaum 1969, Leuenberger 1986, Mauseth 1990, Nyffeler 2002). Sin embargo, las grandes diversificaciones habrían ocurrido después de desarrollarse completamente la suculencia característica del grupo, durante el Mioceno tardío e inicios del Plioceno (8-5 Ma: Arakaki *et al.* 2011).

Este grupo de plantas suculentas y perennes se caracteriza por presentar meristemas especializados de entrenudos cortos, denominados aréolas, que generan espinas, gloquidios, nuevos tallos o flores; este órgano es exclusivo de la familia. Las flores características son de colores brillantes con numerosas piezas, ovario ínfero y varios óvulos de placentación parietal (Wallace & Gibson 2002). Generalmente carecen de hojas o bien, si las desarrollan, son vestigiales o efímeras (excepto *Pereskia*), pero poseen tejidos fotosintéticos corticales bien desarrollados y un xilema especializado que permite el almacenamiento de agua (Mauseth *et al.* 1995). Además, estas plantas

han desarrollado diversas estrategias adaptativas, como el síndrome de metabolismo ácido de las crasuláceas (C.A.M.) que les permite incorporar CO₂ en la noche para utilizarlo en el día, pudiendo crecer en condiciones de elevadas temperatura y sequía (Judd *et al.* 1999).

Engelmann subdividió Cactaceae en tres subfamilias: Pereskioideae Engelm., Opuntioideae Burnett y Cactoideae Eaton (Crozier 2004, Metzger & Kiesling 2008). No obstante, recientes clasificaciones propusieron una nueva subfamilia Maihuenioideae P. Fearn para el género *Maihuenia* Phil. anteriormente ubicado en Pereskioideae (Wallace 1995, Anderson 2001, Nyffeler 2002). Cactoideae contiene el mayor número de especies (1530 sps.) y de diversidad de formas. Los miembros de esta subfamilia han sido tradicionalmente agrupados, siguiendo sus características florales y seminales, en nueve tribus (Buxbaum 1967) aunque posteriormente estas han sido modificadas durante las últimas revisiones taxonómicas (Barthlott & Hunt 1993, Anderson 2001, Hunt *et al.* 2006). No obstante recientes filogenias evidencian que sólo dos de dichas tribus son grupos naturales *Cacteae* y *Rhipsalideae* (Nyffeler 2002, Barcenas *et al.* 2011, Hernández-Hernández *et al.* 2011).

Consecuentemente con la nueva evidencia, Nyffeler & Egli (2010) redefinieron los taxones supragenéricos en seis clados (Fig. 1) denominándolos:

1) Blossfeldiideae Crozier linaje monotípico y hermano a todo el resto de los miembros de Cactoideae, endémico de los Andes argentino-boliviano.

2) Cacteae cuyos miembros se distribuyen exclusivamente en los desiertos Norteamericanos.

3) Cereeae Salm-Dyck, que se extiende por Centroamérica y Sudamérica, distinguiéndose tres linajes: a) Rebutiinae Donald, b) Cereinae Britton & Rose y c) Trichocereinae Buxb.

4) Notocacteae Buxb., que es exclusivo de Sudamérica.

5) Phyllocacteeae Salm-Dyck, con representantes a lo largo de América y donde también se distinguen tres linajes: a) Corryocactinae Buxb, b) Echinocereinae Britton & Rose y c) Hylocereinae Britton & Rose.

6) Rhipsalideae DC. (excepto *Pfeiffera*) distribuido por las selvas tropicales y subtropicales de Sud y Centroamérica.

Este esquema, ha sido apoyado por las dos últimas revisiones a nivel de familia: Barcenás *et al.* (2011) y Hernández-Hernández *et al.* (2011).

Aproximadamente, el 9% de todos los cormófitos son epífitos, de los cuales 125 especies distribuidas en 15 géneros son miembros de Cactaceae (Zost 2013 y trabajos allí citados). El hábito epífita es exclusivo de representantes de Cactoideae y éstos se agrupan principalmente en dos clados Rhipsalideae e Hylocereinae (Barthlott & Hunt 1993, Anderson 2001, Hunt *et al.* 2006). Sin embargo, Korotkova *et al.* (2010) evaluó las nueve especies de *Pfeiffera sensu* Hunt *et al.* (2006) que tradicionalmente se incluían en Rhipsalideae, diferenciando dos linajes independientes: *Pfeiffera* (6 spp.) y *Lymanbensonia* (4 spp.); en ellos algunos miembros son epífitos y otros terrestres. Considerando estos últimos antecedentes se distinguen cuatro linajes epífitos (Fig. 1), apoyando la sugerencia de que el epifitismo es un carácter convergente para Cactoideae (Berger 1926, Barthlott 1983, Gibson & Nobel 1986, Nyffeler 2002, Korotkova *et al.* 2010, Calvente *et al.* 2011 a, b).

Rhipsalideae está integrada por los géneros: *Hatiora* Britton & Rose, *Lepismium* Pfeiff., *Rhipsalis* Gaertn., *Rhipsalidopsis* Britton & Rose y *Schlumbergera* Lem. Sus representantes son mayormente epífitos y algunos litófitos, presentan una gran ramificación que puede ser alterna o en verticilos, sus ramas son péndulas, delgadas y con pocas espinas pudiendo presentar formas cilíndricas, angulosas o aplanadas. Las flores son pequeñas y con pocas piezas, generalmente carecen de tubo floral o bien es muy corto, los estambres están unidos al disco o a la base del tubo floral cuando está presente. Los frutos son bayas inermes, de color blanco, rojo o púrpura, con diminutas

semillas (Britton & Rose 1919-23, Barthlott & Hunt 1993). Presenta dos centros de diversidad, el mayor en la Mata Atlántica del sureste brasileño y el segundo en las Yungas andinas de Argentina y Bolivia (Barthlott 1987, Barthlott & Taylor 1995).

Las relaciones intergenéricas e interespecíficas de Rhipsalideae fueron revisadas por Calvente *et al.* (2011 a, b) y Korotkova *et al.* (2011) y sus conclusiones no son enteramente concordantes. Sin embargo, coinciden en la circunscripción genérica, exceptuando a *Rhipsalidopsis* que Calvente *et al.* (2011 a) lo considera como un subgénero de *Schlumbergera*. En este trabajo se consideró la clasificación de Korotkova *et al.* (2011).

Las 35 sps. de *Rhipsalis*, se organizaron en seis subgéneros: *Goniorhipsalis* K. Schum. más los cinco propuestos por Barthlott & Taylor (1995), de los cuáles sólo *Erythrorhipsalis* A. Berger (7 sps.) resultó monofilético (Calvente *et al.* 2011 b, Korotkova *et al.* 2011). Los restantes se redefinieron de la siguiente manera: *Calamorhipsalis* K. Shum. se expandió, distinguiéndose dos linajes hermanos uno formado por *R. hoelleri*, *R. neves-armondii* y *R. puniceodiscus*, que coinciden con el sistema Barthlott & Taylor (1995), y el otro constituido por el “grupo floccosa” (*R. floccosa*, *R. trigona*, *R. dissimilis*). Por otra parte, *R. paradoxa* quedó como único miembro de *Epallagonium* K. Shum. En tanto que *Phyllarthrorhipsalis* Buxb. también fue expandido incorporando a *R. grandiflora*, *R. ewaldiana* y *R. pittieri*, antiguos miembros del subgénero *Rhipsalis*. Este último finalmente queda conformado por *R. baccifera*, *R. mesembraynthemoides*, *R. teres* y *R. sulcata*. Finalmente, *Goniorhipsalis* está integrado por *R. lindbergiana* y el “grupo pentaptera” (*R. pentaptera*, *R. pacheco-leonis*) excepto *R. paradoxa* (Korotkova *et al.* 2011).

Cabe destacar que *Goniorhipsalis*, *Epallagonium*, *Phyllarthrorhipsalis* y *Rhipsalis* son considerados por Calvente *et al.* (2011 b) como un único linaje que denomina “core *Rhipsalis*”, mientras que a *Calamorhipsalis* y *R. paradoxa* los nombra como “clado del pericarpelo hundido”, sin asignarles rango taxonómico

Hylocereinae comprende a los siguientes géneros: *Disocactus* Lindl., *Epiphyllum* Haw., *Hylocereus* (A. Berger) Britton & Rose, *Pseudorhipsalis* Britton & Rose, *Selenicereus* Britton & Rose y *Weberocereus* Britton & Rose (Bauer 2003). Sus

miembros se caracterizan por ser arbustos epífitos o trepadores que desarrollan raíces adventicias aéreas, con tallos acanalados o aplanados. Sus flores son de tamaño mediano a grande; cuando son nocturnas el color del perianto es blanco, a diferencia de las diurnas que son rojas o rosas (*Disocactus*). El tubo floral puede estar recubierto de espinas y cerdas que nacen de las aréolas axilares a las escamas, o ser desnudo. Los frutos son jugosos e indehiscentes y tienen semillas de bordes rectos, cubiertas por una vaina mucilaginosa (Britton & Rose 1919-23, Barthlott & Hunt 1993, Anderson 2001). Algunas especies de *Hylocereus* y *Selenicereus*, conocidas como “pitaya”, son cultivadas por sus frutos comestibles (Grimaldo-Juarez *et al.* 2001, Tel-Zur *et al.* 2004). El mayor número de especies se encuentra en los bosques tropicales de Centroamérica (Bauer 2003). A la fecha no se han realizado estudios que evalúen las relaciones filogenéticas entre sus géneros y especies; sin embargo existen registros de numerosos híbridos intergenéricos e interespecíficos indicando que las barreras reproductivas entre estos taxones no están fuertemente establecidas (Barthlott & Hunt 1993).

Por último, *Pfeiffera* Salm-Dyck y *Lymanbensonia* Kimnach constituyen dos linajes de origen independiente donde se encuentran representantes epífitos. El primero cuyos miembros presentan ramas péndulas a erectas, puede ser epífita, terrestre o litófito. Sus tallos poseen de tres a ocho costillas o son aplanados (2 costillas), su ramificación es mesotónica, y usualmente no generan raíces adventicias aéreas; las aréolas que recubren sus tallos producen espinas bien desarrolladas. Las flores son blancas o intensamente coloreadas, cuyos pericarpelos y frutos pueden presentar espinas o no. Estos se distribuyen desde el suroeste de Ecuador al norte de Argentina; el oeste de los Andes bolivianos constituye su centro de diversidad (Barthlott & Taylor 1995, Korotkova *et al.* 2010). El segundo contiene plantas predominantemente terrestres o epífitas, estas son inicialmente erectas y luego péndulas con tallos aplanados de ramificación mesotónica, crecimiento indeterminado y sin raíces aéreas. Sus segmentos viejos no son deciduos y los márgenes de las ramas son crenados o crenulados y tienen aréolas superficiales (hundidas en *L. incachacana*), con espinas amarillentas a grises bien desarrolladas, de una a 10 por aréola. Presenta flores intensamente coloreadas o blancas y frutos globosos desnudos de color rojo,

blanco o rosado. Están distribuidas desde el sur de Ecuador hasta el sur del Perú y el oeste de los Andes bolivianos (Korotkova *et al.* 2010).

En Argentina se encuentran representados tres de los cuatro clados epífitos de Cactáceas, diez taxones pertenecen a Rhipsalideae, todos los miembros de *Lepismium* (seis taxones) y cuatro taxones de *Rhipsalis*. De los restantes, dos pertenecen a Hylocereinae y dos son miembros de *Pfeiffera* (Fig. 2, 3). Todos ellos habitan en las provincias Paranaense y de las Yungas, aunque se encuentra un par de especies en el Chaco y el Espinal (Castellanos 1925, Kiesling 2006, Kiesling *et al.* 2008). La delimitación morfológica de algunos de los géneros y especies es problemática, esto puede deberse a la existencia de gran variación morfológica entre las poblaciones de una misma especie, la evolución paralela de varias estructuras y, en algunos casos, la existencia de híbridos intergenéricos e interespecíficos. La mayoría de los caracteres usados en la identificación de estos taxones son homoplásicos y además, las combinaciones de estos caracteres se superponen entre los taxones de los distintos linajes epífitos, lo que sugeriría que su evolución morfológica es compleja (Britton & Rose 1919-23, Hunt & Taylor 1990, Calvente *et al.* 2011 a).

Las características estructurales y cuantitativas de los cromosomas son importantes aportes en las investigaciones taxonómicas y evolutivas. Los cromosomas constituyen un sistema dinámico que se moldea durante el proceso evolutivo, y esta variación se expresa a través de características analizables, como su número, forma y tamaño. Estos datos tomados en conjunto para el complemento cromosómico definen el cariotipo de las especies, constituyendo la unidad de mayor nivel estructural y funcional en la organización del genoma nuclear. De esta manera, el análisis comparativo de cariotipos de especies relacionadas filogenéticamente es tradicionalmente usado para describir patrones y direcciones del cambio cromosómico dentro de grupos e inferir el rol evolutivo que juegan tales cambios (Stebbins 1971, Grant 1981, Greilhuber & Ehrendorfer 1988, Levin 2002, Schubert 2007,

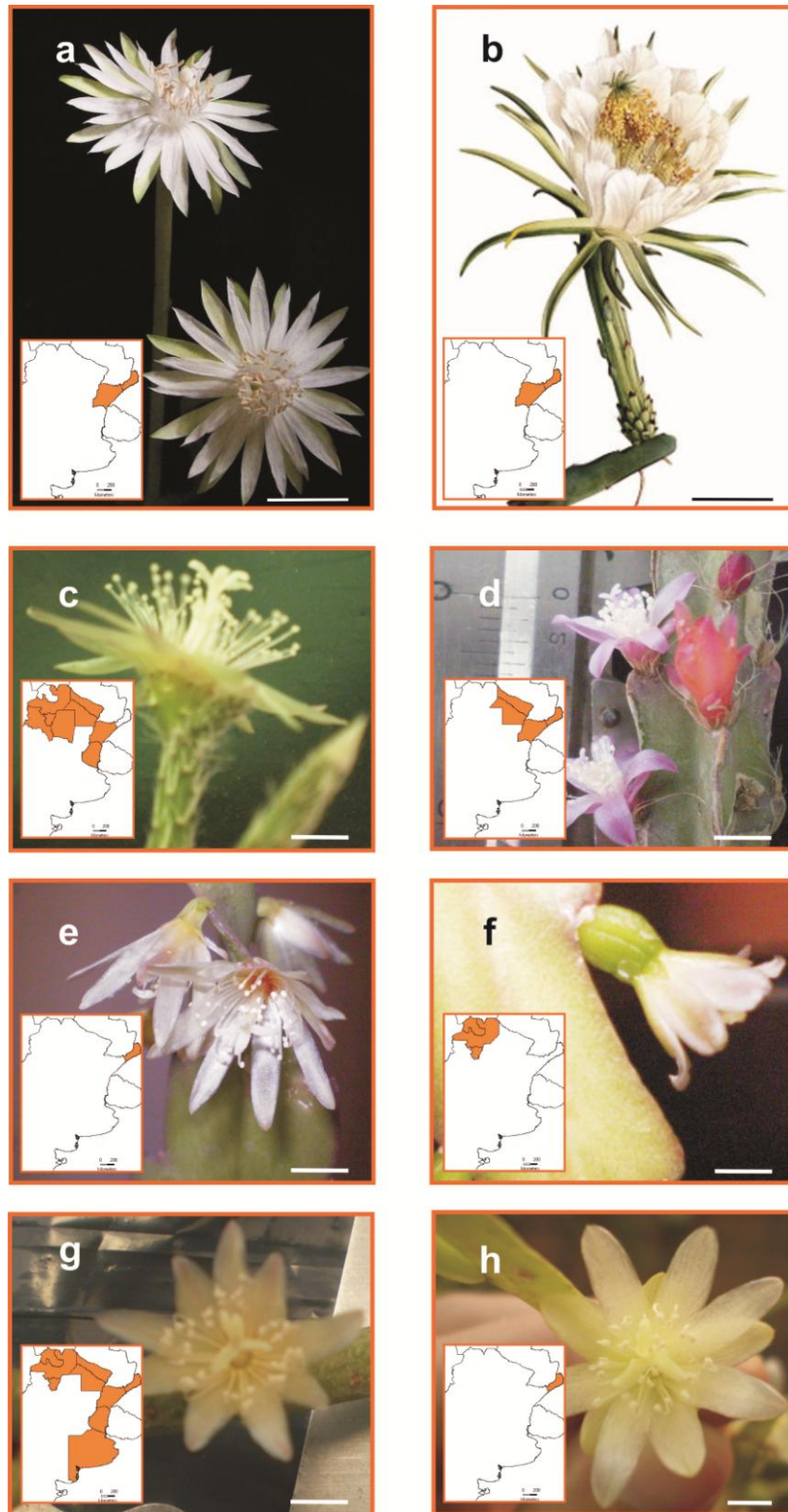


Fig. 2: Flores de Cactaceae epífitas y su distribución en Argentina. a, *Epiphyllum phyllanthus*; b, *Selenicereus setaceus*; c, *Lepismium aculeatum*; d, *L. cruciforme*; e, *L. houletianum*; f, *L. lorentzianum*; g, *L. lumbricoides*; h, *L. warmingianum*. La barra representa 50 mm en a y b, 5 mm en c, d, e, f, g y h.

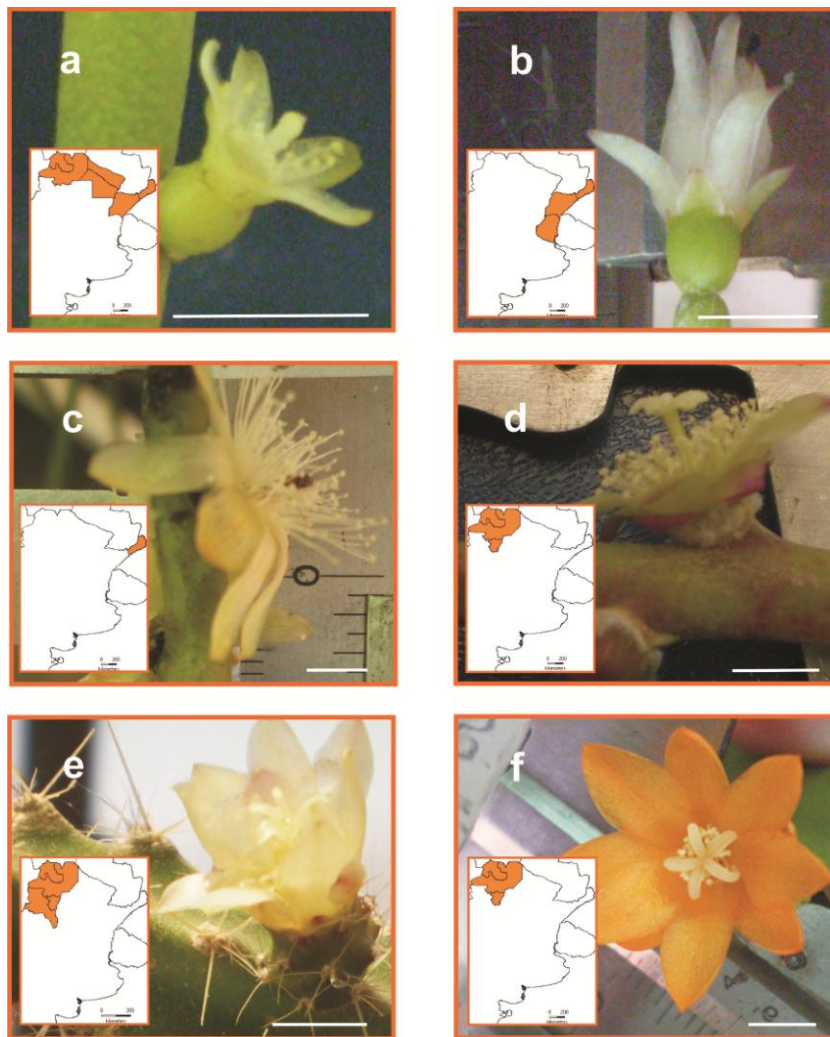


Fig. 3: Flores de Cactaceae epífitas y su distribución en Argentina. a, *Rhipsalis baccifera*; b, *R. cereuscula*; c, *R. floccosa* subsp. *hohenauensis*; d, *R. floccosa* subsp. *tucumanensis*; e, *Pfeiffera ianthothele*; f, *P. monacantha*. La barra representa 5 mm.

Heslop-Harrison & Schwarzacher 2011, Weiss-Schneeweiss & Schneeweiss 2013).

La heterocromatina es uno de los mayores componentes del genoma de las plantas (Bennetzen 2000, Lamb *et al.* 2007, Heslop-Harrison & Schwarzacher 2011), la cual se compone de secuencias heterogéneas que generalmente son elementos móviles, o secuencias repetidas en tándem. Estas últimas son normalmente asociadas a regiones funcionales como centrómeros, telómeros, organizadores nucleolares (NORs), o también pueden localizarse en regiones que parecen no tener actividad (Schwarzacher 2003, Gaut & Ross-Ibarra 2008). La heterocromatina es altamente variable en plantas, tanto en su composición como en su distribución a lo largo de los cromosomas; el desarrollo de métodos de tinciones diferenciales tales como el bandeo cromosómico fluorescente ha permitido estudiarla (Guerra 2000, Avramova 2002). Algunos fluorocromos como la Cromomicina A₃ (CMA) tienen mayor afinidad por secuencias de ADN ricas en repeticiones tipo CG, mientras que otros como el 4'-6-diamidino-2- fenilindol (DAPI) por repeticiones tipo AT; esta afinidad diferencial permite no solo evidenciar el patrón de distribución de la heterocromatina a lo largo del cromosoma sino también caracterizar su composición (Schweizer 1976, Vosa 1976, Summer 1990). El análisis de los patrones de distribución de heterocromatina en el complemento cromosómico facilita la identificación cromosómica y la elaboración de su cariotipo, así como también evaluar dichos patrones entre taxones relacionados contribuye a entender las relaciones entre estos (Guerra 2000, Raskina *et al.* 2008).

Los genes ribosomales (18-5,8-25S y 5S) son excelentes marcadores para la caracterización cariotípica debido a que son universales y sus regiones codificantes son conservadas a largas distancias evolutivas, esto permite localizarlos en varios grupos de plantas sin que sea imprescindible información genómica detallada. También su ubicación y número son altamente variables, a nivel interespecífico (Ali *et al.* 2005, Hasterok *et al.* 2006, Baeza *et al.* 2007, Weiss-Schneeweiss *et al.* 2008), intraespecífico (Pedrosa-Harand *et al.* 2006) e intrapoblacional (Frello & Heslop-Harrison 2000, Baeza *et al.* 2007), siendo esta variabilidad independiente del número cromosómico. Asimismo son blanco de movilidad genómica lo que podría estar involucrado en la diferenciación de especies (Schubert & Wobus 1985, Hall & Parker 1995, Raskina *et al.*

2008). Todas estas características, sumado a que se encuentra un gran número de copias repetidas en un mismo *locus* posibilitando su visualización a través de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) y a que cada cistron (18-5,8-25S y 5S) es independiente en posición y número (excepto en *Artemisa*: Asteraceae; Garcia *et al.* 2010), los convierte en herramientas útiles para la identificación de cromosomas homólogos y posibles homeologías entre genomas independientes (Jiang & Gill 1994, 2006, Heslop-Harrison & Schwarzacher 2011, Weiss-Schneeweiss & Schneeweiss 2013).

Los estudios cromosómicos en Cactaceae han abarcado las cuatros subfamilias propuestas, pero la mayoría se limitan a recuentos cromosómicos (e.g. Beard 1937, Di Fulvio 1977, Kiesling 1980, Ross 1981, Leuenberger 1986, 1997, Pinkava & Parfitt 1982, Pinkava *et al.* 1985, Cota & Philbrick 1994, Cota & Wallace 1996, Arakaki *et al.* 2007, Mihalte *et al.* 2011, Majure *et al.* 2012). Estudios cariotípicos se realizaron sólo sobre integrantes de *Mammillaria* (Das *et al.* 1998 b, Briones *et al.* 2004, Del Angel *et al.* 2006), *Echinocereus* (Cota & Wallace 1995), *Ferocactus* (Das *et al.* 1999), *Opuntia* (Bandyopadhyay & Sharma 2000, Palomino & Heras 2001), *Hylocereus* (Grimaldo-Juárez *et al.* 2001), *Echinopsis* (Das & Mohanti 2006), *Schlumbergera* (Ortolandi *et al.* 2007), *Pyrrhocactus* (Las Peñas *et al.* 2008) y *Setiechinopsis* (Las Peñas *et al.* 2011). Cabe destacar, que sólo los cuatro últimos son taxones de distribución sudamericana. Todos estos antecedentes confirman que el número básico para la familia es $x=11$ (Raven 1975, Lewis 1980, Ross 1981, Guerra 2008). Las principales variaciones que ocurren este grupo de plantas son numéricas, particularmente la poliploidía (Beard 1937, Pinkava & McLeod 1971, Ross 1981, Cota & Philbrick 1994, Soltis *et al.* 2007, Majure *et al.* 2012), aunque también se ha reportado a *Schlumbergera* \times *buckleyi* como aneuploide ($2n = 34$). En tanto que las técnicas de bandeo cromosómico se han aplicado hasta la fecha en unos pocos taxones: bandeo C en *Schlumbergera truncata* y un híbrido *S. x buckleyi* (Ortolani *et al.* 2007), y bandeo fluorescente en todas las especies del género *Pyrrhocactus* (Las Peñas *et al.* 2008), y algunas de *Pereskia*, *Maihuenia*, *Cumulopuntia*, *Acanthocalycium*, *Echinopsis* y *Trichocereus* (Las Peñas *et al.* 2009); evidenciándose en todos los taxones evaluados heterocromatina rica en pares de bases CG, y también en algunas especies de *Pyrrhocactus* se encontró

heterocromatina rica en AT. Por otro lado la técnica de FISH se aplicó en representantes de todas las subfamilias de Cactaceae para localizar el gen ribosomal 18-5,8-25S usando como sonda pTa 71, situándose este en todos los casos en el cromosoma de mayor tamaño del complemento (Las Peñas *et al.* 2009, 2013). Asimismo, Las Peñas *et al.* (2011) desarrollaron un sonda específica para el gen ribosomal 5S que hasta el momento solo se evaluó en unos pocos taxones (Las Peñas *et al.* 2011, 2013).

Las investigaciones citológicas en los clados epífitos se remiten a recuentos cromosómicos en su mayoría. Para los miembros de Rhipsalideae se contaron dos especies de *Hatiora*, cuatro de *Lepismium*, 29 de *Rhipsalis*, una de *Rhipsalidopsis* y dos de *Schlumbergera*. Todas ellas presentan $2n=22$ (Peev 1976, Gadella *et al.* 1979, Ross 1981, Pankin 1999, 2005, Ortolani *et al.* 2007), existiendo antecedentes de poblaciones poliploides entre las distintas subespecies de *R. baccifera* (Gadella *et al.* 1979, Barthlott & Hunt 1993, Cota-Sanchez & Bomfin-Patricio 2010). En Hylocereeae se han reportado estudios cariológicos para poblaciones de sus cuatro géneros: *Disocactus*, *Hylocereus*, *Selenicereus* y *Weberocereus* y un recuento meiótico para *Epiphyllum macropterum*. Para todos los casos estudiados se encontró el guarismo $2n = 22$, excepto para *S. megalanthus* y *S. setaceus* los cuales resultaron con $2n = 44$ (Beard 1937, Spencer 1955, Sarkar *et al.* 1982, Kamble 1993, Thompson 1993, Lichtenzweig *et al.* 2000, Grimaldo-Juárez *et al.* 2001). En lo que respecta a *Pfeiffera* se estudiaron dos de sus seis especies siendo también diploides (Peev 1976, Gadella *et al.* 1979). Sólo se han realizado cariotipos para *S. truncata*, *S. x buckleyi* e *Hylocereus* sp. (Ortolani *et al.* 2007, Grimaldo-Juarez *et al.* 2001) esto podría deberse al pequeño tamaño cromosómico, la dificultad de realizar los preparados citológicos dado el alto contenido de mucílago que impide la separación adecuada de las células y a las dificultades que se presentan a la hora de obtener tejidos meristemáticos debido a las modificaciones en las raíces, características de la vida epífita (Cota & Wallace 1994). Tampoco se han investigado sus patrones de heterocromatina, ni la localización de genes ribosomales. En base a estos antecedentes, se investigó citológicamente a los representantes epífitos de Cactaceae de nuestro país, con el objeto de contribuir a esclarecer las relaciones filogenéticas y aportar datos a estudios sistemáticos.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar los cromosomas mitóticos de representantes argentinos de *Hylocereineae*, *Rhipsalidae* y *Pfeiffera* con técnicas de coloración convencional, bandeo cromosómico fluorescente e hibridación *in situ* fluorescente, considerando sus características cualitativas y cuantitativas, con la finalidad de establecer sus cariotipos y contribuir a un mejor conocimiento de sus relaciones sistemáticas y evolutivas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el número de cromosomas a partir de células de raicillas de individuos enraizados.
- Confeccionar cariogramas de cada entidad, utilizando técnicas de coloración (convencional, bandeo con doble tinción fluorescente CMA/DAPI e hibridación *in situ* fluorescente).
- Establecer homeologías cromosómicas entre los miembros de los géneros mediante el mapeo de genes ribosómicos por hibridación *in situ* fluorescente y bandeo cromosómico CMA/DAPI.
- Calcular las siguientes variables: largo total de cada par cromosómico y posición del centrómero de cada par cromosómico según el índice braquial.
- Determinar cariotipos de los taxones.
- Calcular el largo total del genoma haploide, largo cromosómico promedio, índice braquial promedio y los índices de asimetría intracromosómica e intercromosómica de Romero Zarco (1986).
- Comparar estadísticamente las variables obtenidas entre las entidades analizadas con el objeto de determinar si existen diferencias significativas entre ellas.
- Aplicar técnicas de taxonomía numérica para generar fenogramas y definir la similitud de los cariotipos obtenidos.
- Analizar la evolución de los caracteres cromosómicos mediante la reconstrucción de sus estados ancestrales.

MATERIALES & MÉTODOS

I. Especies estudiadas.

En este trabajo se estudiaron los taxones listados en la Tabla 1, los cuales representan todas las especies de cactus epífitos descritas para Argentina (Kiesling *et al.* 2008). Se agrupan en tres linajes *Pfeiffera*, *Hylocereineae* y *Rhipsalideae* (Korotkova *et al.* 2011).

Todos los taxones aquí estudiados fueron recolectados de poblaciones naturales abarcando su distribución en Argentina. Para alguna de estas especies también se agregaron ejemplares provenientes de cultivo. Los datos de procedencia de todo el material están detallados en la Tabla 1.

El material estudiado fue mantenido en cultivo y sus correspondientes ejemplares de herbario fueron determinados por el Dr. Roberto Kiesling (CCT-Mendoza) y están depositados en el herbario del Museo Botánico (CORD).

II. Pretratamiento, fijación y preparaciones cromosómicas.

Las metafases somáticas se obtuvieron a partir de raicillas adventicias. Los cromosomas mitóticos se estudiaron a partir de células obtenidas de ápices radicales pretratados con 8-hidroxiquinoleína 0,002 M durante 24 horas a 4°C, fijados en alcohol etílico absoluto:ácido acético glacial (3:1) por 24 horas y conservados a -20°C.

Las preparaciones cromosómicas se realizaron mediante el aplastado de ápices radicales en una gota de ácido acético al 45%, los cuales fueron previamente lavados en agua destilada por 10 minutos, digeridos con una solución de celulasa al 2% p/v (Sigma-Aldrich, Austria) y pectinasa al 20% p/p (*Aspergillus niger*; Sigma-Aldrich, Austria) durante 45 minutos a 37°C, y posteriormente diseccionados sobre un portaobjeto. Estos aplastados fueron fijados por inmersión en nitrógeno líquido y almacenados a -20°C. Con estos procedimientos se obtuvieron las placas metafásicas que posteriormente se usaron para todas las metodologías.

Tabla 1. Cactus epífitos estudiados de Argentina agrupados por linajes, localidades estudiadas y datos de colecta.

Taxón	Localidad
Hylocereineae	
<i>Epiphyllum phyllanthus</i> (L.) Haw.	Misiones. Dpto. Capital: Posadas, alrededores del jardín Botánico. Moreno & Iglesias 04. 23-X-2010.
	Misiones. Dpto. Iguazú: Puerto Iguazú. Chiarini F. 1015. 12-VI-2013
	Misiones. Dpto. San Ignacio: San Ignacio, ruinas jesuíticas. Chiarini F. 1016. 12-VI-2013.
<i>Selenicereus setaceus</i> (Salm-Dyck ex DC.) Werderm.	Corrientes. Dpto. San Luis del Palmar: San Luis del Palmar. Kiesling s.n.
Pfeiffera	
<i>Pfeiffera ianthothele</i> (Monv.) F.A.C. Weber	Salta, Dpto. La Caldera: camino de cornisa. Barboza <i>et al.</i> 2204. 26-II-2009.
	Salta, Dpto. La Caldera: Ojo de Agua. Barboza <i>et al.</i> 2207. 26-II-2009
	Tucumán, Dpto. Chicligasta: Iltico. Barboza <i>et al.</i> 2132. 23-II-2009.
<i>P. monacantha</i> (Griseb.) P.V. Heath	Jujuy, Dpto. Libertador Gral. San Martín: Calilegua. Barboza <i>et al.</i> 2248. 28-II-2009.
Rhipsalideae	
<i>Lepismium aculeatum</i> (F.A.C. Weber) Barthlott	Salta, Dpto. Oran: Pichanal. Moreno & Amarilla s.n. 25-II-2011.
	Santiago del Estero, Dpto. Guasayán: Guasayán, Estancia El Tableado. Demaio & Amarilla s.n. 15-III-2011.
	Tucumán, Dpto. Graneros: Taco Ralo. Kiesling s.n.
	Cultivada. Rodríguez M.
<i>L. cruciforme</i> (Vell.) A. Cast.	Corrientes, Dpto. Mercedes: Col. Carlos Pellegrini. Moreno & Amarilla s.n. 8-I-2010.
	Corrientes, Dpto. Santo Tome: Gobernador Virasoro. Barboza <i>et al.</i> 2088. 6-XII-2008.
	Misiones, Dpto. Apóstoles: Apóstoles. Moreno & Iglesias 09. 26-X-2010.
	Misiones, Dpto. Guaraní: El Soberbio. Barboza <i>et al.</i> 2095. 7-XII-2008.

Materiales & Métodos

	Misiones, Dpto. Obera: Obera. Moreno & Iglesias 23. 28-X-2010.
	Misiones, Dpto. San Javier: Itacaruaré. Moreno & Iglesias 17. 26-X-2010.
	Misiones, Dpto. 25 de Mayo: Alba Posse. Moreno & Iglesias 25. 29-X-2010.
	Cultivada. Rodríguez M.
<i>L. houlettianum</i> (Lem.) Barthlott	Misiones, Dpto. Guaraní: El Soberbio. Moreno & Iglesias 27. 29-X-2010.
	Misiones, Dpto. San Pedro: San Pedro. Kiesling s.n.
<i>L. lorentzianum</i> (Griseb.) Barthlott	Jujuy, Dpto. Ledesma: pasando el Abre de Cañas, rumbo a Valle Grande. Barboza <i>et al.</i> 2259. 28-II-2009.
	Tucumán, Dpto. Yerba Buena: Reserva Horco Molle. Bernardello 922. 14-XII-2008.
	Corrientes, Dpto. Mercedes: Col Carlos Pellegrini. Moreno & Amarilla s. n. 8-I-2010.
	Entre Ríos, Dpto. Colon: El Palmar. Chiarini 712. 5-XI-2009.
	Jujuy, Dpto. Gral. Manuel Belgrano: San Salvador de Jujuy. Moreno s.n. 19-IV-2008.
<i>L. lumbricoides</i> (Lem.) Barthlott	Misiones, Dpto. Apóstoles: Apóstoles. Moreno & Iglesias 08. 25-X-2010.
	Misiones, Dpto. Obera: Obera. Moreno & Iglesias 24. 28-X-2010.
	Salta, Dpto. Capital: San Lorenzo. Bernardello 926. 5-IX-2009.
	Tucumán, Dpto. Yerba Buena: Reserva Horko Molle. Bernardello 924. 14-XII-2008.
<i>L. warmingianum</i> (K. Schum.) Barthlott	Misiones, Dpto. Guaraní: Salto Paraíso. Barboza <i>et al.</i> 2112. 7-XII-2008.
	Cultivada. Kiesling R.
<i>Rhipsalis baccifera</i> (J. S. Muell.) Stearn	Corrientes, Dpto. Capital: Corrientes. Amarilla s.n. 16-X-2009.
	Misiones, Dpto. Apóstoles: Apóstoles. Moreno & Iglesias 07. 25-X-2010.
	Misiones, Dpto. Capital: Posadas. Moreno & Iglesias 02. 23-X-2010.
	Misiones, Dpto. Concepción: Concepción de la Sierra. Moreno & Iglesias 14. 27-X-2010.
	Salta, Dpto. Orán: San Ramón de la Nueva Orán. Moreno &

Materiales & Métodos

	Amarilla s.n. 25-II-2011.
	Salta, Dpto. Oran: Pichanal. Moreno & Amarilla s.n. 25-II-2011.
<i>R. cereuscula</i> Haw. ex Phil.	Corrientes, Dpto. Mercedes: Mercedes. Moreno & Amarilla s.n. 8-I-2010.
	Misiones, Dpto. Concepción: Concepción de la Sierra. Moreno & Iglesias 16. 27-X-2010.
	Misiones, Dpto. Obera: Panambí. Moreno & Iglesias 21. 27-X-2010.
	Cultivada. Rodríguez M.
<i>R. floccosa</i> subsp. <i>hohenauensis</i> (F. Ritter) Barthlot & Taylor	Misiones, Dpto. Guaraní: Predio Guaraní, por el sendero Chachi. Barboza <i>et al.</i> 2111. 7-XII-2008.
	Salta, Dpto. La Caldera: El Ucumar. Barboza <i>et al.</i> 2206. 22-II-2009.
<i>R. floccosa</i> subsp. <i>tucumanensis</i> (F.C.A. Weber) Bartholt & Taylor	Tucumán, Dpto. Chicligasta: Iltico. Barboza <i>et al.</i> 2133. 23-II-2009.
	Tucumán, Dpto. Yerba Buena: Reserva Horko Moyo. Bernardello 924. 14-XII-2008.
	Tucumán, Dpto. Yerba Buena: El Rulo. Barboza <i>et al.</i> 2268. 1-III-2009.

III. Tinción convencional.

Las placas metafásicas para la evaluación morfométrica de los cromosomas fueron teñidas con Giemsa según el protocolo de Guerra & Souza (2002) con ligeras modificaciones. La tinción se realizó de la siguiente manera:

- ✓ Colocar los preparados en una cubeta de tinción que contenga una solución de Giemsa al 2% durante 2 minutos.
- ✓ Lavar las preparaciones cromosómicas con agua destilada durante 5 o 10 minutos.
- ✓ Secar al aire y montar con el bálsamo Entellan© (Merck, Alemania).

IV. Bando fluorescente CMA/DAPI.

La doble coloración con Cromomicina A₃ (CMA) y 4'-6-diamidino 2-fenilindol (DAPI) fue realizada con el objeto de evidenciar la presencia y distribución de heterocromatina constitutiva del genoma, así como también caracterizar su composición según su afinidad diferencial a cada fluorocromo. Los patrones de bandas fueron codificados de la siguiente forma: las bandas CMA⁺/DAPI⁻ se clasificaron como ricas en nucleótidos CG, mientras que las CMA⁻/DAPI⁺ como ricas en nucleótidos AT. Además, bandas CMA⁺/DAPI⁺ fueron consideradas neutras. La técnica se desarrolló según Schweizer & Ambros (1994) y consistió en:

- ✓ Incubar el preparado cromosómico con una solución de 0,5 g/ml de CMA en cámara húmeda y oscuridad a 37°C durante 60 minutos.
- ✓ Lavar el portaobjetos con agua destilada por 5 minutos en oscuridad.
- ✓ Incubar con una solución de 2 µg/ml de DAPI en cámara húmeda y oscuridad a 37°C durante 30 minutos.
- ✓ Lavar el portaobjetos con agua destilada por 5 minutos en oscuridad.
- ✓ Montar el preparado con glicerol:tampón McIlvaine 1:1 y conservar en oscuridad por tres días a temperatura ambiente.

V. Doble hibridación *in situ* fluorescente.

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) permite localizar físicamente fragmentos de ADN en el genoma. En este trabajo se visualizaron la posición y el número de ambos genes ribosomales, 18-5,8-26S (45S) y 5S. Las sondas utilizadas para ello fueron: pTa71, que contiene los genes de 18-5,8-26S (Gerlach & Bedbrook 1979) y una desarrollada específicamente para el gen 5S de Cactaceae, obtenida a partir de *Pereskia aculeata* por Las Peñas *et al.* (2011). Para visualizar dichas sondas, estas fueron marcadas por *nick-traslación* con biotina-14-dATP (BioNick Invitrogen, EEUU) y digoxigenina-11-dUTP (Roche Diagnostics, EEUU), respectivamente.

La técnica de FISH se llevó a cabo siguiendo el protocolo descrito por Schwarzacher & Heslop-Harrison (2000), con ligeras modificaciones:

- ✓ Tratamientos pre-hibridación.
 - Incubar las preparaciones cromosómicas con 100 µg/ml ARNasa/2X SSC en cámara húmeda a 37°C por 60 minutos.
 - Lavar en solución 2X SSC a temperatura ambiente por 5 minutos, luego en solución paraformaldehído al 7% durante 5 minutos y finalmente repetir el lavado con 2X SSC.
 - Deshidratar con serie de etanol al 70% y 100% por 5 minutos y dejar secar al aire.
- ✓ Mezcla de hibridación.
 - Preparar la mezcla de hibridación con: 1,5 ng/µl de cada sonda, formamida desionizada al 100%, sulfato de dextrano al 50%, solución tampón de 20X SSC y dodecil sulfato de sodio al 10%.
 - Desnaturalizar la mezcla de hibridación a 70°C por 10 minutos.
 - Enfriar en hielo hasta su uso.
- ✓ Ciclado de hibridación
 - Agregar la mezcla sobre cada preparación cromosómica y cubrir con un cubreobjeto.

- Incubar los preparados en un termociclador con el siguiente programa de ciclado: 90°C por 10 minutos, 48°C por 10 minutos y 38°C por 5 minutos.
 - Mantener en cámara húmeda a 37°C por 24 horas.
- ✓ Lavado post-hibridación.
- Lavar sucesivamente las preparaciones cromosómicas en 2X SSC, 0,1X SSC, 2X SSC, y 4X SSC por 10 minutos cada uno. Todas las soluciones a 42°C.
 - Lavar en 4X SSC por 10 minutos a temperatura ambiente.
- ✓ Bloqueo y detección.
- Agregar solución de albúmina de suero bovino al 3% a las preparaciones, cubrir con cubreobjetos e incubar en cámara húmeda por 5 minutos.
 - Preparar solución de detección con avidina-FITC (Invitrogen, EEUU) y antidigoxigenina-rodamina (Roche, EEUU), colocar a los preparados e incubar en cámara húmeda a 37°C en oscuridad por 60 minutos.
 - Lavar en oscuridad 3 veces con 4X SSC por 5 minutos cada lavado.
 - Montar el preparado con DAPI-Vectashield (Vector Lab, EEUU) y mantener a 4°C en oscuridad por 3 días.

VI. Adquisición de imágenes

Luego de cada tinción se tomaron fotomicrografías con una cámara digital (Leica DFC300FX). Para la tinción clásica se usó un microscopio con contraste de fases (Zeiss Axiophot), mientras que para las tinciones fluorescentes se utilizó un microscopio de epifluorescencia (Zeiss Axiophot), empleando los juegos de filtros adecuados para la excitación de los fluorocromos correspondientes.

VII. Análisis morfométrico de los cromosomas.

Las mediciones morfométricas de los cromosomas se realizaron sobre las placas metafásicas teñidas con Giemsa y fueron efectuadas usando el software de manejo de imágenes Image J©1.43 (Rasband 1997-2009).

Los cariogramas para cada placa metafásica se realizaron organizando los cromosomas en grupos de acuerdo a su índice braquial siguiendo la terminología de Levan *et al.* (1964), ordenándolos luego por el largo decreciente dentro de cada categoría. Se efectuaron mediciones referidas a la longitud del brazo corto, longitud del brazo largo y longitud total del cromosoma. Estos datos permitieron calcular el índice braquial y según su valor asignarlos a las siguientes categorías: “m”(r=1,00 - 1,69) y “sm”(r=1,70 - 2,99).

Los cariotipos se construyeron tomando los valores cromosómicos promedios de al menos diez placas metafásicas provenientes de distintos individuos (2-5) y con sus respectivos desvíos estándar, estas mediciones se detallan en el Anexo I. Para cada taxón se calcularon las siguientes variables:

- ✓ Longitud cromosómica media de cada par cromosómico (**c**), promediando los largos totales de cada miembro del par.
- ✓ Posición del centrómero, mediante índice braquial (**r**), calculado con el valor medio de la longitud del brazo largo (**l**) sobre el valor medio de la longitud del brazo corto (**s**).
- ✓ Largo cromosómico promedio (**C**), se calculó promediando las longitudes cromosómicas totales medias (**c**).
- ✓ Índice braquial promedio (\bar{r}), se calculó promediando los índices braquiales de cada par cromosómico.
- ✓ Razón entre la longitud del mayor y el menor cromosoma del complemento (**R**).
- ✓ La asimetría de los cariotipos se estimó usando los índices de asimetría de Romero Zarco (1986).

- El índice de asimetría intracromosómica (A_1) se calcula en función de las siguientes variables: b_i y B_i son los valores medios de los brazos cortos y largos, respectivamente, correspondientes a cada par cromosómico y n es el número de pares cromosómicos del complemento. Toma valores de 0 a 1, tiende a 0 cuando mayor el número de cromosomas m , y es independiente del tamaño y número cromosómico.

$$A_1 = 1 - \left[\frac{\left(\frac{\sum b_i}{\sum B_i} \right)}{n} \right]$$

- El índice de asimetría intercromosómica (A_2) relaciona S que representa la desviación estándar y X que es la media de las longitudes cromosómicas del complemento. Este índice es independiente del tamaño y el número.

$$A_2 = S/X$$

- ✓ Usando los valores promedios de los pares cromosómicos se representó el cariotipo de cada taxón mediante un idiograma.

La cantidad de heterocromatina constitutiva se calculó como un porcentaje respecto al complemento cromosómico para cada taxón. Este porcentaje se midió sobre la fotomicrografía correspondiente a CMA en al menos tres placas metafásicas de individuos diferentes, usando el programa Image J©1.43 (Rasband 1997-2009).

Las señales de hibridación de los genes 45S y 5S y las bandas de heterocromatina constitutiva se adicionaron a los idiogramas. Adoptándose la siguiente terminología para denominar los marcadores cromosómicos:

- ✓ Pericentroméricas, ocupan el centrómero y regiones adyacentes.
- ✓ Paracentromérica, ocupan la región adyacente al centrómero en un solo brazo cromosómico.
- ✓ Terminal, cuando se localizan en posición telomérica.

- ✓ Intercalar, cuando se ubican en cualquier posición a lo largo del brazo cromosómico.

VIII. Análisis estadístico

Las variables obtenidas se compararon estadísticamente entre las entidades analizadas, mediante la prueba de ANAVA, con el objeto de determinar si existen diferencias significativas entre ellas (Sokal & Rohlf 1995). La comparación entre medias se realizó utilizando la prueba de Tukey, permitiendo reconocer entre que taxones se dan diferencias significativas. Las variables usadas fueron:

- 1) c_1 : largo total del cromosoma n° 1.
- 2) c_2 : largo total del cromosoma n° 2.
- 3) c : largo cromosómico promedio.
- 4) lt : largo total del genoma haploide.
- 5) r : índice braquial promedio.
- 6) % ht : porcentaje de heterocromatina asociado a NORs por complemento haploide.

Estas variables se calcularon por placas metafásicas. La selección de las mismas se realizó en base a la facilidad de establecer homologías precisas entre ellas. Realizándose 5 réplicas para cada taxón usando individuos distintos y de diferentes localidades. Los detalles de la matriz utilizada para el análisis se detallan en el Anexo II.

Además se realizaron estudios de correlación entre las variables largo total del genoma haploide, el índice de asimetría intercromosómico y el porcentaje de heterocromatina por genoma haploide, para ello se utilizó el coeficiente de Sperman (Sneath & Sokal 1973).

Los valores promedios obtenidos para cada taxón se sometieron a análisis numéricos con el objeto de establecer las distancias cariotaxonómicas, considerando

cada taxón como una unidad taxonómica operativa (OTU). Las variables usadas en la matriz fueron:

- 1) número cromosómico haploide (n).
- 2) largo total del genoma básico.
- 3) largo cromosómico promedio (C).
- 4) razón entre la longitud del mayor y el menor cromosoma del complemento (R).
- 5) índice braquial promedio (\bar{r}).
- 6) índice de asimetría intracromosómico (A_1).
- 7) índice de asimetría intercromosómico (A_2).
- 8) porcentaje de heterocromatina asociada a NORs por genoma básico.
- 9) número de señales de hibridación para el gen ribosomal 18-5,8-26S.
- 10) número de señales de hibridación para el gen ribosomal 5S.
- 11) sintenia de los genes ribosomales.
- 12) cromosoma n° 2 con locus 5S
- 13) cromosoma n° 3 con locus 5S.
- 14) cromosoma n° 8 con locus 5S.

Todas las variables excepto el largo total del genoma básico y el porcentaje de heterocromatina corresponden al complemento haploide. Se optimizaron los valores promedios para cada carácter y se generaron matrices de similitud/disimilitud usando la distancia de Manhattan. A través de un análisis de agrupamiento se generó un fenograma mediante la técnica de ligamiento promedio utilizando la media aritmética no ponderada (UPGMA) y se calculó el coeficiente de correlación cofenética para probar la distorsión entre los datos originales y el fenograma resultante (Sneath &

Sokal 1973, Crisci & López Armengol 1983). Los detalles de la matriz utilizada, conjuntamente con la codificación de caracteres discretos se detallan en el Anexo III.

Todos los análisis estadísticos y estandarización de datos se realizaron usando el programa INFOSTAT versión 1.1 (Di Rienzo *et al.* 2002).

IX. Evolución de caracteres cromosómicos

Las reconstrucciones filogenéticas se realizaron utilizando una matriz con 7 regiones cloroplásticas (*trnK*, *matK*, *rbcL*, *rps3-rpl16*, *rpl16*, *psbA-trnH*, *trnQ-rps16*) publicada por Korotkova *et al.* (2011) y disponible en TreeBase (<http://www.treebase.org>, estudio ID 11406). A partir de este conjunto de datos se seleccionaron 40 terminales correspondientes a todos los miembros de *Lepismium*, *P. monacantha*, *R. baccifera*, *R. cereuscula*, *R. floccosa* y *Echinopsis aurea*. Además se incorporaron secuencias de dichos marcadores provenientes de GenBank para *P. ianthothele* (FR716764, FR716785, FR716775, FR716795) y *E. phyllanthus* (HM041690, HQ727848, HQ727769). A excepción de estos dos último taxones, *P. monacantha* y *Echinopsis aurea*, el conjunto de datos posee más de una terminal por taxón. Los siguientes taxones fueron considerados como grupo externo *P. ianthothele*, *P. monacantha*, *E. phyllanthus* y *Echinopsis aurea* a partir de Korotkova *et al.* (2010, 2011). Los procedimientos de alineamiento y obtención de la filogenia se detallan en el Anexo IV.

El filograma consenso (regla de mayoría 50%) obtenido por inferencia bayesiana se utilizó para reconstruir la historia evolutiva de los caracteres cromosómicos. Se evaluaron los posibles estados ancestrales para 8 caracteres cromosómicos. Estos se consideraron discretos y fueron codificados como binarios de la siguiente forma:

- ✓ Número de locus 18-5,8-25S por genoma haploide: 0= uno; 1= más de uno.
- ✓ Número de locus 5S por genoma haploide: 0= uno; 1= más de uno.
- ✓ Sintenia entre locus 45S y 5S: 0= ausencia; 1= presencia.
- ✓ Locus 5S en el par cromosómico 1: 0= ausencia; 1= presencia.
- ✓ Locus 5S en el par cromosómico 2: 0= ausencia; 1= presencia.
- ✓ Locus 5S en el par cromosómico 3: 0= ausencia; 1= presencia.

- ✓ Locus 5S en el par cromosómico 8: 0= ausencia; 1= presencia.
- ✓ Bandas heterocromáticas no asociadas a NORs: 0= ausencia; 1= presencia.

El cambio de estado de dichos caracteres fue optimizado usando los métodos de Máxima Parsimonia y Máxima Verosimilitud, ambos fueron llevados a cabo en Mesquite V. 2.74 (Maddison & Maddison 2011). La matriz de caracteres cromosómicos se muestra en el Anexo V. Para la optimización por Máxima Parsimonia se utilizaron los parámetros que el programa incorpora por defecto y considerando los estados de caracteres como no ordenados, independientes y de igual peso, y para Máxima Verosimilitud se usó el modelo de *Markov one-rate* (MK1).

RESULTADOS

I. Número cromosómico

En el presente trabajo se estudiaron citológicamente 53 localidades, 48 provenientes de poblaciones naturales y cinco muestras cultivadas, que abarcan la distribución en Argentina de 12 especies y dos variedades de cactus epífitos cuyos números cromosómicos se detallan en la Tabla 2.

Los representantes de *Epiphyllum*, *Pfeiffera*, *Lepismium* y *Rhipsalis* resultaron diploides con $2n = 22$ (Figs. 4, 5, 6) en todas las localidades estudiadas, mientras que la única localidad de *Selenicereus setaceus* evaluada fue tetraploide con $2n = 44$ (Fig. 6 d).

Se reportó por primera vez el número cromosómico para *L. lorentzianum*, *L. lumbricoides* (Fig. 4 d y e) y la variedad *hohenauensis* de *R. floccosa* (Fig. 5 c), en tanto que se confirmaron los guarismos de las demás especies analizadas en distintas poblaciones.

II. Cariotipos

El análisis morfométrico de los cariotipos de cada especie se resume en la Tabla 2. En todos los taxones, los cromosomas del complemento resultaron siempre de tamaño pequeño, sus longitudes oscilan entre un máximo de 3,93 μm en *E. phyllanthus* y un mínimo de 0,89 μm en *R. floccosa* subsp. *hohenauensis*. El largo cromosómico promedio entre todos los taxones fue de 2,02 μm y la longitud total del complemento haploide varió entre un máximo de 34,00 μm en *E. phyllanthus* y un mínimo de 13,66 μm en *R. floccosa* subsp. *hohenauensis*.

Por otra parte, el índice braquial promedio (\bar{r}) varió entre 1,12 y 1,22 siendo este último el valor más frecuente, concordando con la fórmula cariotípica de 22 *m* encontrada para todas las especies diploides estudiadas, y 44 *m* para el tetraploide *S. setaceus*.

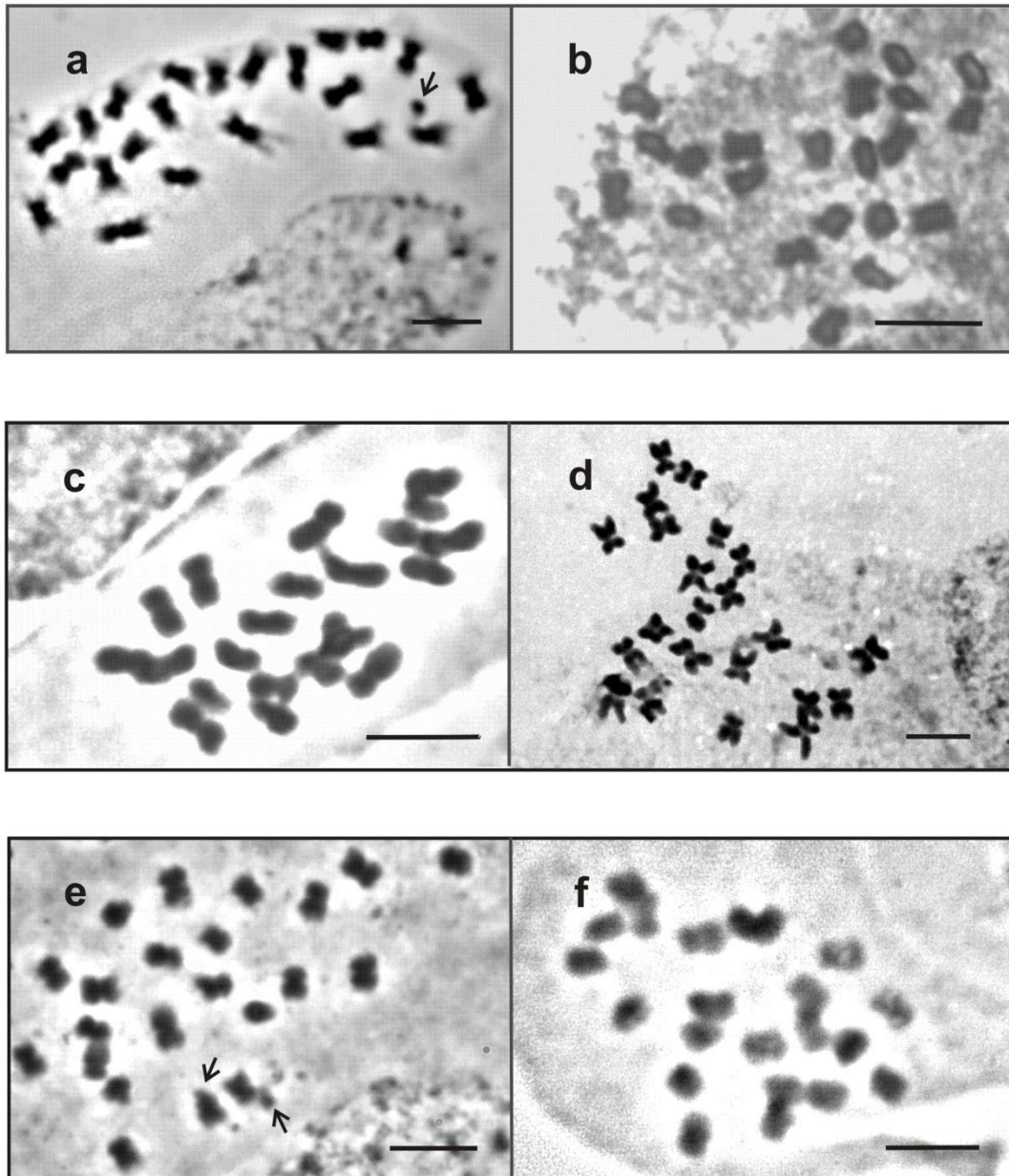


Fig. 4: Metafases mitóticas de *Lepismium*. a, *L. aculeatum*; b, *L. cruciforme*; c, *L. houlltienum*; d, *L. lorentzianum*; e, *L. lumbricoides*; f, *L. warmingianum*. Las flechas indican las constricciones secundarias. La barra representa 5 μm .

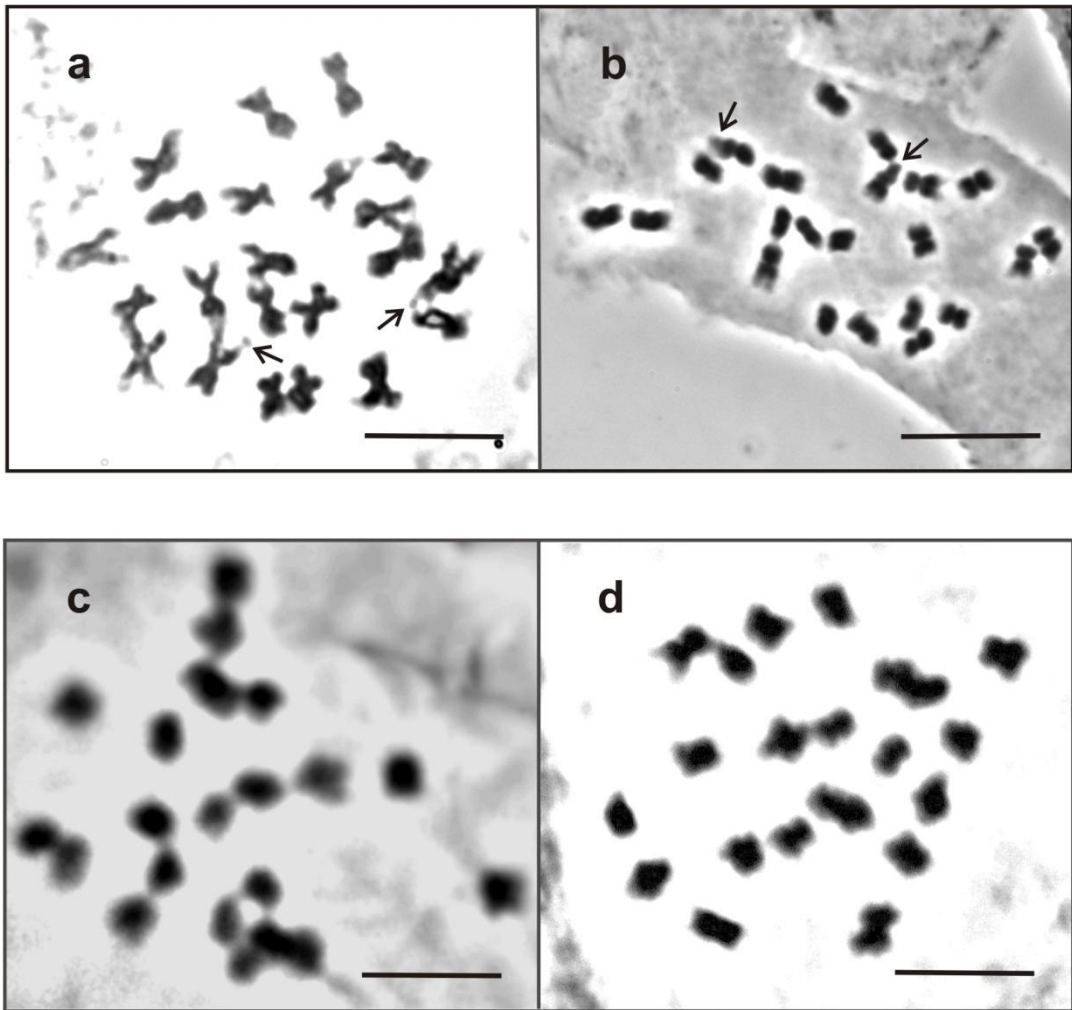


Fig. 5: Metafases mitóticas de *Rhipsalis*. a, *R. baccifera*; b, *R. cereuscula*; c, *R. floccosa* subsp. *hohenauensis*; d, *R. floccosa* subsp. *tucumanensis*. Las flechas indica las constricciones secundarias. La barra representa 5 µm.

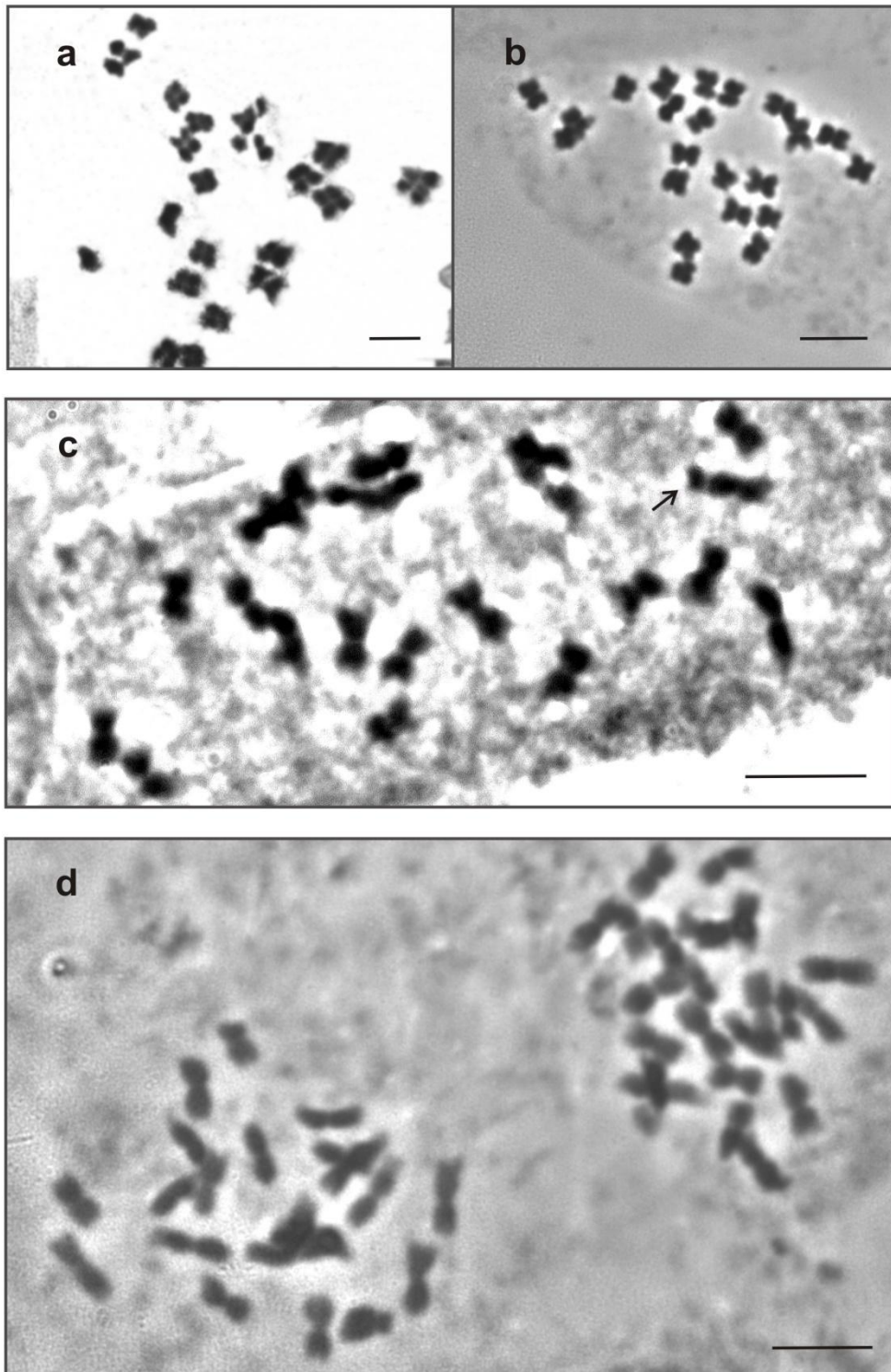


Fig. 6: Metafases mitóticas de *Pfeiffera*, *Epiphyllum* y *Selenicereus*. a, *P. ianthothele*; b, *P. monacantha*; c, *E. phyllanthus* d, *S. setaceus*. La flecha indica la constricción secundaria. La barra representa 5 μm .

En algunas placas metafásicas de *E. phyllanthus* (Fig. 6 c), *L. aculeatum*, *L. lumbricoides* (Fig. 4 a, e), *R. baccifera* (Fig. 5 a) y *R. cereuscula* (Fig. 5 b) se observó un único par de constricciones secundarias, siempre asociadas al brazo corto del par cromosómico de mayor tamaño. En los taxones restantes no fue posible evidenciarlas mediante tinción convencional.

III. Asimetría Cariotípica

Los cariotipos de las especies estudiadas son simétricos tanto en lo que refiere a la posición del centrómero, como a la variación de tamaño entre los cromosomas del complemento. Los valores de asimetría intracromosómica (A_1) variaron entre 0,10 para *S. setaceus* y 0,18 para *L. houletianum* y *L. lorentzianum*, siendo el valor más frecuente 0,17. Estos valores bajos se corresponden con el hecho que solo se encuentren cromosomas del tipo *m* en todos los taxones evaluados. Por otro lado, el índice de asimetría intercromosómico (A_2) osciló entre 0,13 para *L. houletianum* y 0,18 para *R. baccifera*, siendo el valor más frecuente 0,15; reflejando el tamaño homogéneo entre los cromosomas de estos complementos (Tabla 2).

La comparación de los valores de ambos índices de asimetría para cada uno de los taxones estudiados permite segregar a *S. setaceus*. Entre las especies restantes no se distinguen grupos, ya que sus valores se distribuyen homogéneamente en el espacio (Fig. 7).

IV. Bando Cromosómico

La tinción diferencial CMA/DAPI permitió distinguir un único tipo de heterocromatina CMA⁺/DAPI⁻ en los taxones estudiados. Esta heterocromatina rica en CG se encontró en todos los casos asociada a la constricción secundaria, resultando en un par de bandas en los taxones diploides (Figs. 8, 9, 10, 11) y dos pares en

Resultados

Tabla 2. Datos cariotípicos. 2n: número cromosómico diploide, FC: fórmula cariotípica, C: largo cromosómico promedio, Lt: largo total del genoma haploide, R: razón entre el cromosoma de mayor y menor tamaño, \bar{r} : índice braquial promedio, A₁: índice de asimetría intracromosómica, A₂: índice de asimetría intercromosómica.

Taxones	2n	FC	C (μm)	Lt (μm)	R	\bar{r}	A ₁	A ₂
Hylocereineae								
<i>Epiphyllum phyllanthus</i>	22	22 m	3,09	34,00	2,13	1,22	0,17	0,17
<i>Selenicereus setaceus</i>	44	44 m	3,07	67,54	1,83	1,12	0,10	0,15
Pfeiffera								
<i>Pfeiffera ianthothele</i>	22	22 m	1,77	19,48	1,83	1,19	0,16	0,16
<i>P. monacantha</i>	22	22 m	1,61	17,69	1,90	1,19	0,16	0,15
Rhipsalideae								
<i>Lepismium aculeatum</i>	22	22 m	2,13	23,48	1,77	1,20	0,17	0,15
<i>L. cruciforme</i>	22	22 m	1,90	20,90	1,91	1,21	0,17	0,15
<i>L. houlletianum</i>	22	22 m	2,04	22,43	1,64	1,22	0,18	0,13
<i>L. lorentzianum</i>	22	22 m	1,40	15,45	1,64	1,22	0,18	0,14
<i>L. lumbricoides</i>	22	22 m	2,08	22,92	1,73	1,22	0,17	0,14
<i>L. warmingianum</i>	22	22 m	1,83	20,16	1,85	1,17	0,14	0,16
<i>Rhipsalis baccifera</i>	22	22 m	2,43	26,76	2,22	1,21	0,17	0,18
<i>R. cereuscula</i>	22	22 m	1,99	21,86	1,89	1,18	0,15	0,16
<i>R. floccosa</i>	22	22 m	1,24	13,66	1,92	1,16	0,13	0,16
subsp. <i>hohenauensis</i>								
<i>R. floccosa</i>	22	22 m	1,28	14,10	1,73	1,19	0,16	0,14
subsp. <i>tucumanensis</i>								

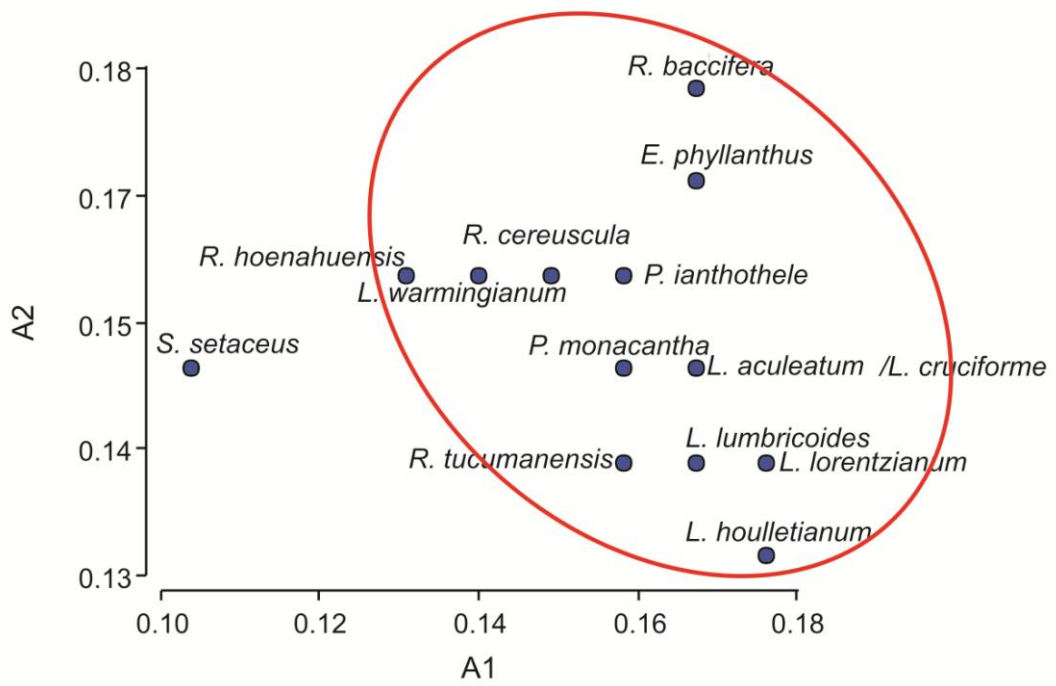


Fig. 7: Diagrama de dispersión de los índices de asimetría de Romero Zarco (1986) en las especies estudiadas.

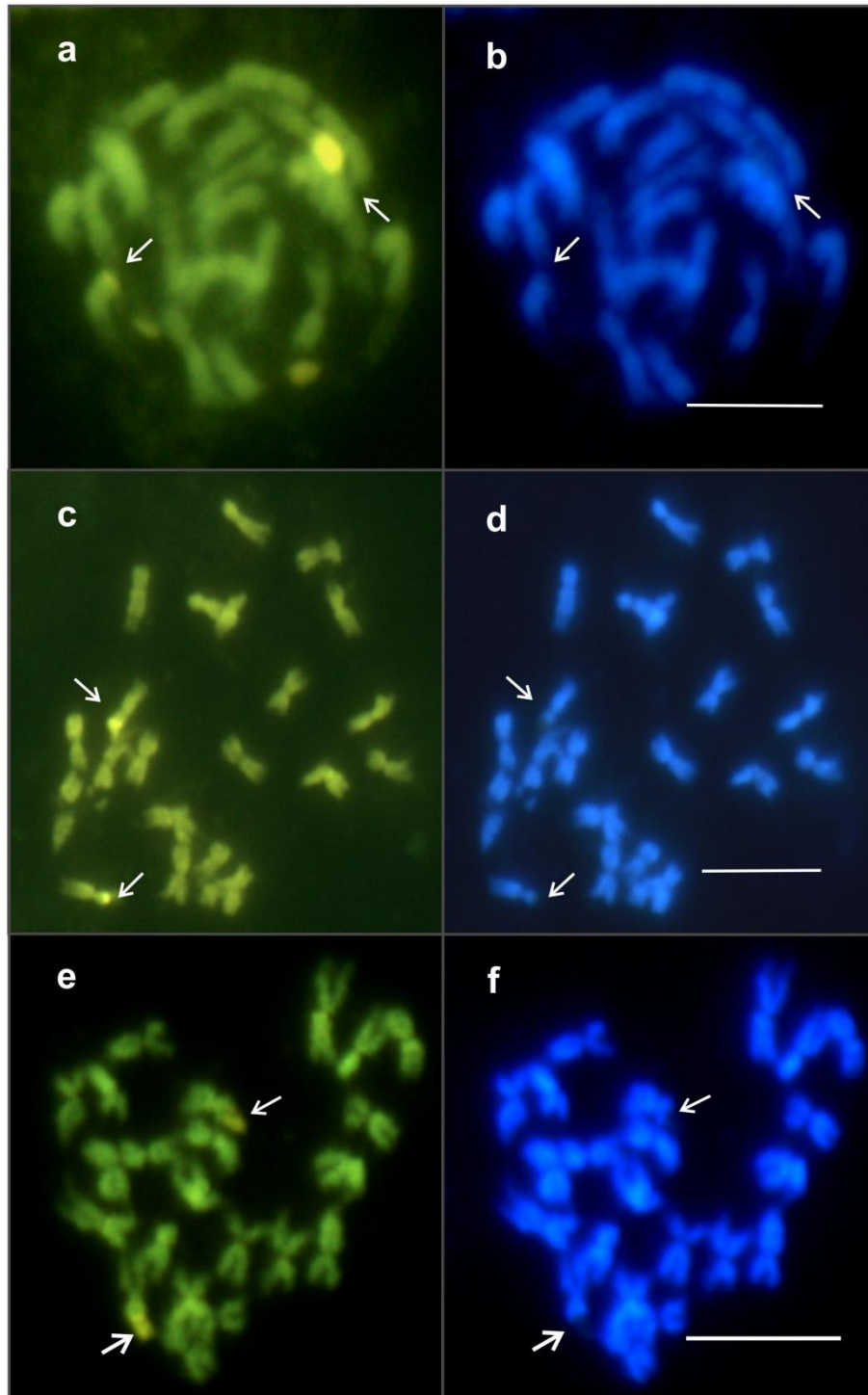


Fig. 8: Bando CMA/DAPI en *Lepismum*. a, b, *L. aculeatum*; c, d, *L. cruciforme*; e, f, *L. houlettianum*. a, c, e CMA; b, d, f DAPI. Las flechas indican bandas CMA⁺/DAPI⁻-NORs. La barra representa 5 μ m.

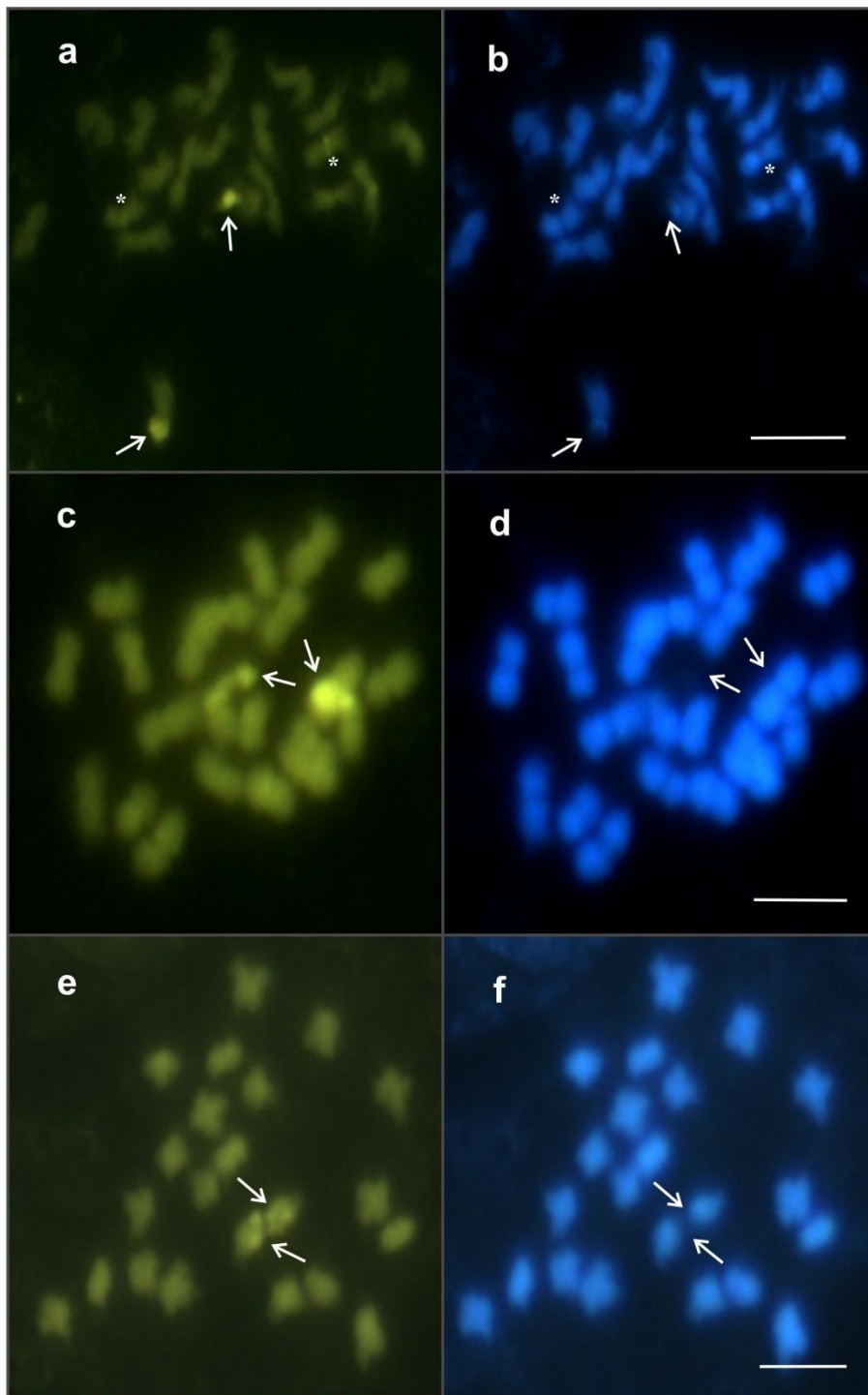


Fig. 9: Bando CMA/DAPI en *Lepismum*. a, b, *L. lorentzianum*; c, d, *L. lumbricoides*; e, f, *L. warmingianum*. a, c, e CMA; b, d, f DAPI. Las flechas indican bandas CMA⁺/DAPI⁻ NORs. Los asteriscos bandas CMA⁺/DAPI⁻. La barra representa 5 μ m.

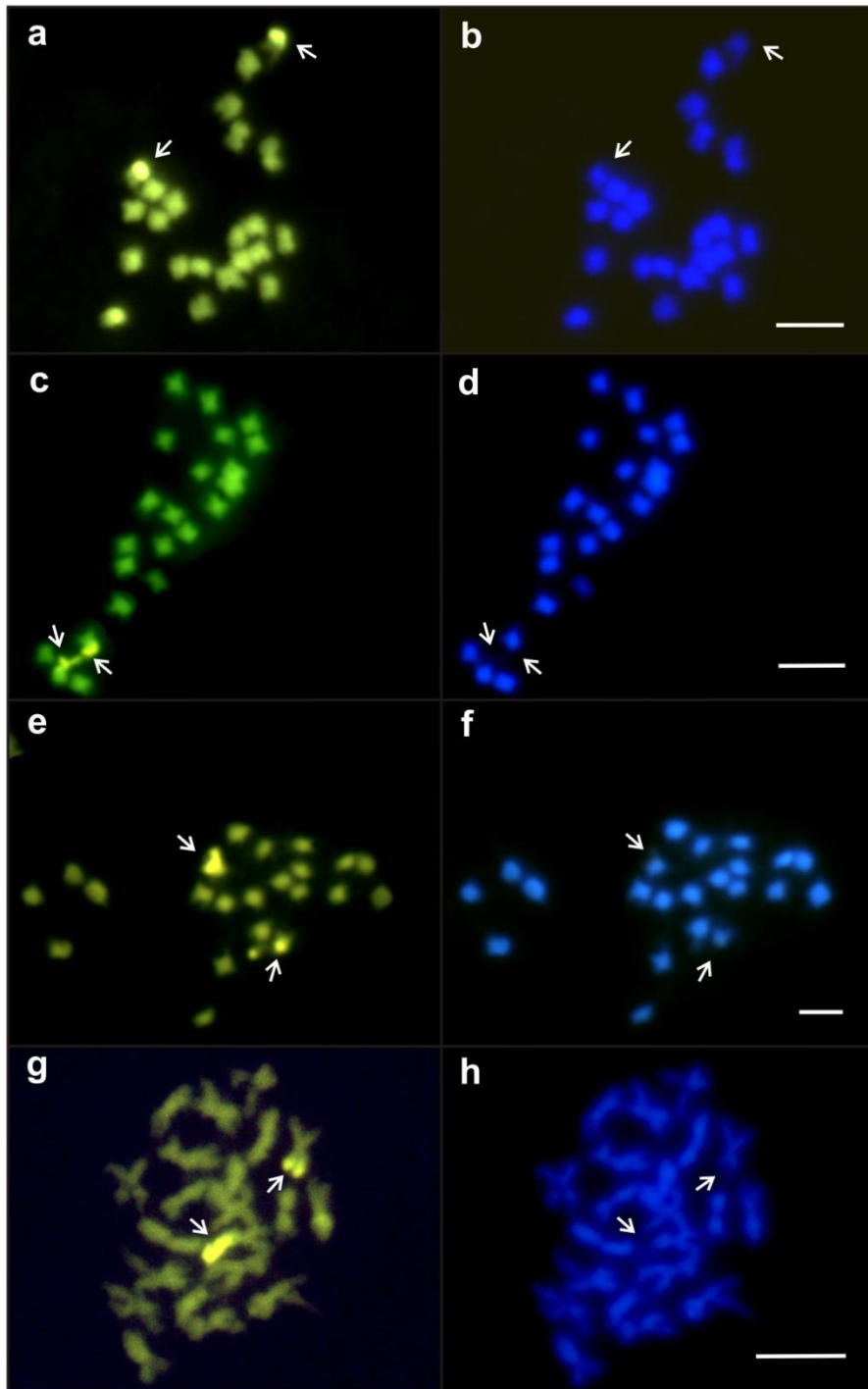


Fig. 10: Bando CMA/DAPI en *Rhipsalis*. a, b, *R. baccifera*; c, d, *R. ceresucula*; e, f, *R. floccosa* subsp. *hohenauensis*; g, h, *R. floccosa* subsp. *tucumanensis*. a, c, e, g CMA; b, d, f, h DAPI. Las flechas indican bandas CMA⁺/DAPI⁻-NORs. La barra representa 5 μ m.

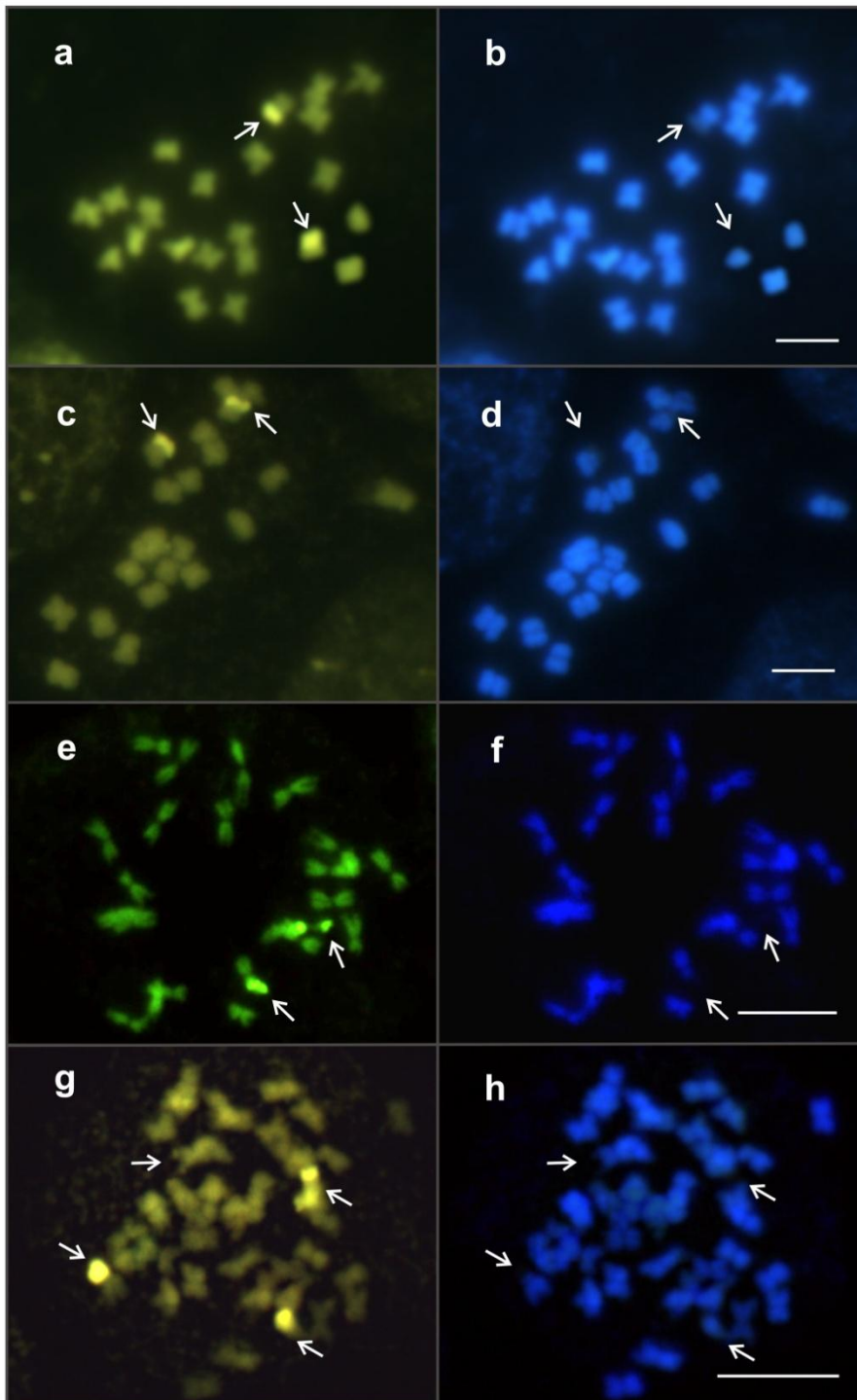


Fig. 11: Bando CMA/DAPI en: a, b, *Pfeiffera ianthothele*; c, d, *P. monacantha*; e, f, *Epihyllum phyllanthus*; g, h, *Selenicereus setaceus*. a, c, e, g CMA; b, d, f, h DAPI. Las flechas indican bandas CMA⁺/DAPI⁻NORs. Los asteriscos bandas CMA⁺/DAPI⁻. La barra representa 5 μ m.

el taxón tetraploide (Fig. 11 g, h). En *L. lorentzianum* se distingue adicionalmente un par de bandas CMA⁺/DAPI⁻ en la región paracentromérica del brazo largo del par cromosómico n° 2 (Fig. 6 a). Ocasionalmente en *L. cruciforme* se encuentran bandas intercalares; sin embargo estas no fueron representadas en los idiogramas por no ser conspicuas. En ninguna de las poblaciones analizadas se detectó heterocromatina rica en pares de bases AT.

La heterocromatina rica en CG asociada a NORs fue cuantificada como un porcentaje respecto al largo total del genoma. El valor medio de heterocromatina total fue 1,69 % (Tabla 3). Sin embargo para realizar comparaciones entre taxones se calculó el porcentaje de heterocromatina por genoma básico encontrándose el valor máximo en *P. ianthothele* (2,40%) mientras que *L. cruciforme* (1,01%) presenta el valor mínimo. Adicionalmente en *L. aculeatum* se evidenció un heteromorfismo de tamaño entre las bandas CMA⁺/NORs de cada miembro del par cromosómico (Fig. 8 a).

El porcentaje de heterocromatina por genoma básico presenta una correlación negativa respecto al largo total del genoma básico entre los integrantes de *Rhipsalis* ($r = -0,45$; $P = 0,05$); sin embargo no existe correlación entre estas variables cuando se toman todos los taxones estudiados ($r = -0,13$; $P = 0,27$).

V. Hibridación *in situ* fluorescente

El locus del gen ribosomal 18-5,8-26S siempre se encuentra asociado a la constricción secundaria del par metacéntrico de mayor tamaño del complemento. Así como también en todos los casos examinados las señales de hibridación correspondientes a dicho gen ribosomal se asocian a pares de bandas de heterocromatina rica en pares de bases CG. En los taxones diploides se localiza un par de señales de hibridación (Figs. 12, 13, 14), en tanto que en el taxón tetraploide se distinguen cuatro señales en los dos primeros pares cromosómicos (Fig. 14 d). Además, el tetraploide *S. setaceus* presenta un heteromorfismo de tamaño en la señal de hibridación del primer par cromosómico.

Tabla 3. Porcentaje de heterocromatina constitutiva CMA⁺ asociada a NORs (% ht), ds: desvío estandar.

Taxones	%ht ± ds
Hylocereineae	
<i>Epiphyllum phyllanthus</i>	1,97 ± 0,24
<i>Selenicereus setaceus</i>	2,02 ± 0,21
Pfeiffera	
<i>Pfeiffera ianthothele</i>	2,40 ± 0,30
<i>P. monacantha</i>	2,33 ± 0,27
Rhipsalideae	
<i>Lepismium aculeatum</i>	1,99 ± 0,70
<i>L. cruciforme</i>	1,01 ± 0,19
<i>L. houlettianum</i>	1,65 ± 0,15
<i>L. lorentzianum</i>	1,06 ± 0,31
<i>L. lumbricoides</i>	1,91 ± 0,24
<i>L. warmingianum</i>	1,29 ± 0,25
<i>Rhipsalis baccifera</i>	1,39 ± 0,30
<i>R. cereuscula</i>	1,35 ± 0,15
<i>R. floccosa</i> subsp. <i>hohenauensis</i>	2,01 ± 0,31
<i>R. floccosa</i> subsp. <i>tucumanensis</i>	1,35 ± 0,22

Las señales del gen ribosomal 5S se localizan en diferentes regiones cromosómicas del brazo largo y en diferente número por genoma haploide. A excepción de *R. cereuscula* cuyo único locus 5S se ubica en la región intersticial; todos los taxones diploides presentan al menos un par de loci del gen ribosomal 5S ubicado en la región paracentromérica. En *L. aculeatum*, *L. cruciforme* y *L. houlettianum* este locus se ubica en par cromosómico n° 8 (Figs. 12, 15), en tanto que en *L. lorentzianum*, *L. lumbricoides*, *L. warmingianum* (Figs. 12, 15), *P. ianthothele*, *P. monacantha* (Figs. 14, 17), *R. baccifera*, y ambas variedades de *R. floccosa* (Figs. 13, 16) en el segundo par cromosómico.

Los taxones diploides que presentan más de un locus para el gen 5S como: *L. houlettianum*, *P. ianthothele* y *P. monacantha*, este par adicional se localiza en la región intersticial del brazo largo de un cromosoma *m*. En el primer caso se ubican en el segundo par cromosómico (Fig. 16), mientras que en ambos representantes de *Pfeiffera* se corresponden con el tercer par cromosómico (Fig. 17). Por otra parte en *L. lorentzianum* y *L. warmingianum* el segundo par de señales del gen 5S coinciden con las regiones donde hibrida la sonda del gen 18-5,8-26S.

Las señales de hibridación para la región 5S en *S. setaceus* presentan un patrón particular. Se encuentran cinco pares de locus 5S; dos pares que se ubican en el brazo largo: uno en la región paracentromérica, mientras que el otro en la región distal del mismo cromosoma. Este patrón de hibridación se repite tanto en el par cromosómico n° 3 como en el par n°4. El quinto par de señales coincide con la región de hibridación del gen 18-5,8-26S, en el segundo par con satélite del tetraploide (Fig. 17).

VI. Análisis estadístico

Se compararon estadísticamente mediante análisis de la varianza (ANAVA) los taxones de *Lepismium*, *Pfeiffera* y *Rhipsalis*. En este análisis se excluyó a *E. phyllanthus* y *S. setaceus* debido a que el número de individuos y localidades para estos taxones no

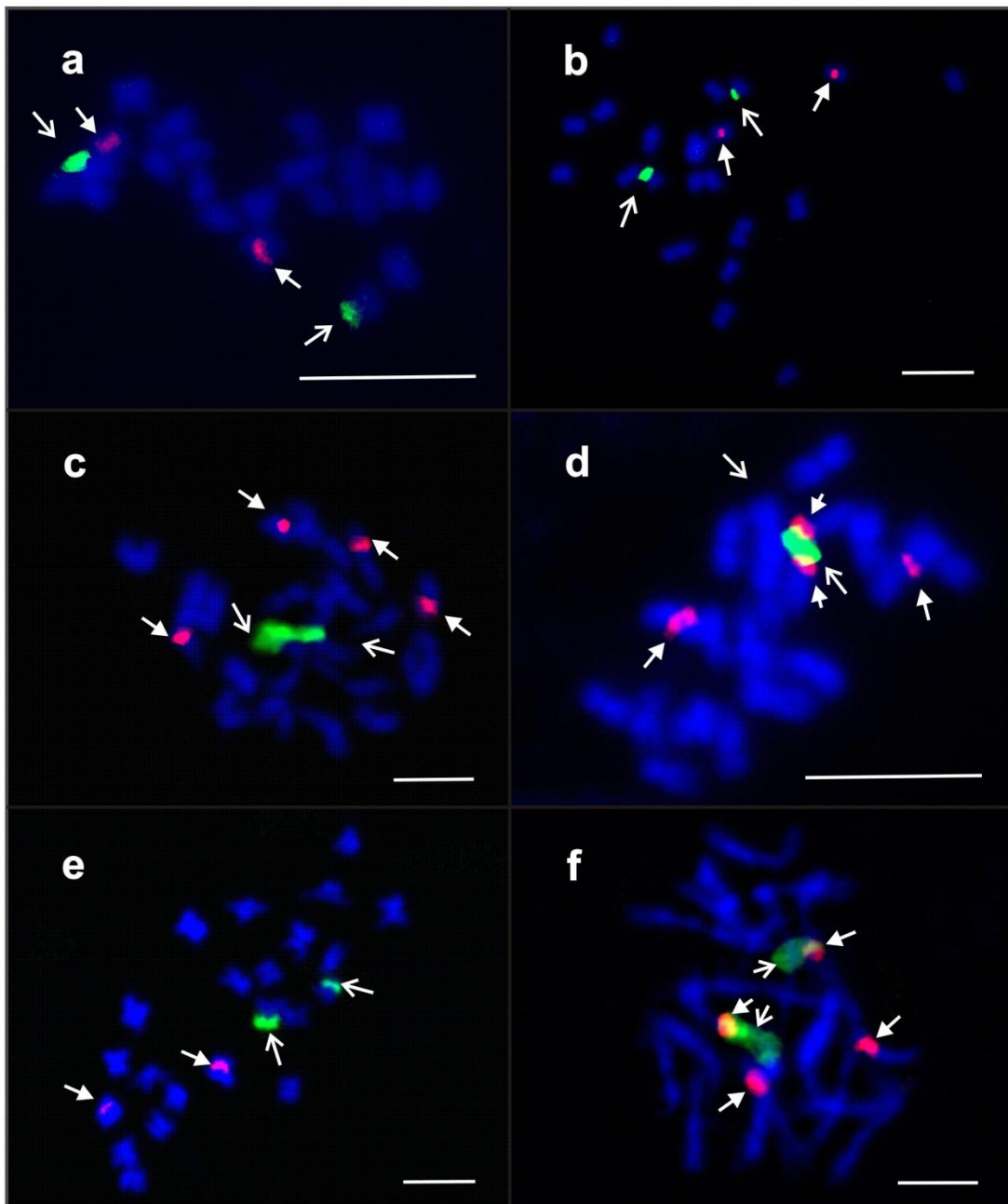


Fig. 12: FISH en *Lepismum*. a, *L. aculeatum*; b, *L. cruciforme*; c, *L. houlettianum*; d, *L. lorentzianum*; e, *L. lumbricoides*; f, *L. warmingianum*. Flechas indican sitios 18-5,8-26S y flechas rellenas sitios 5S. La barra representa 5 μ m.

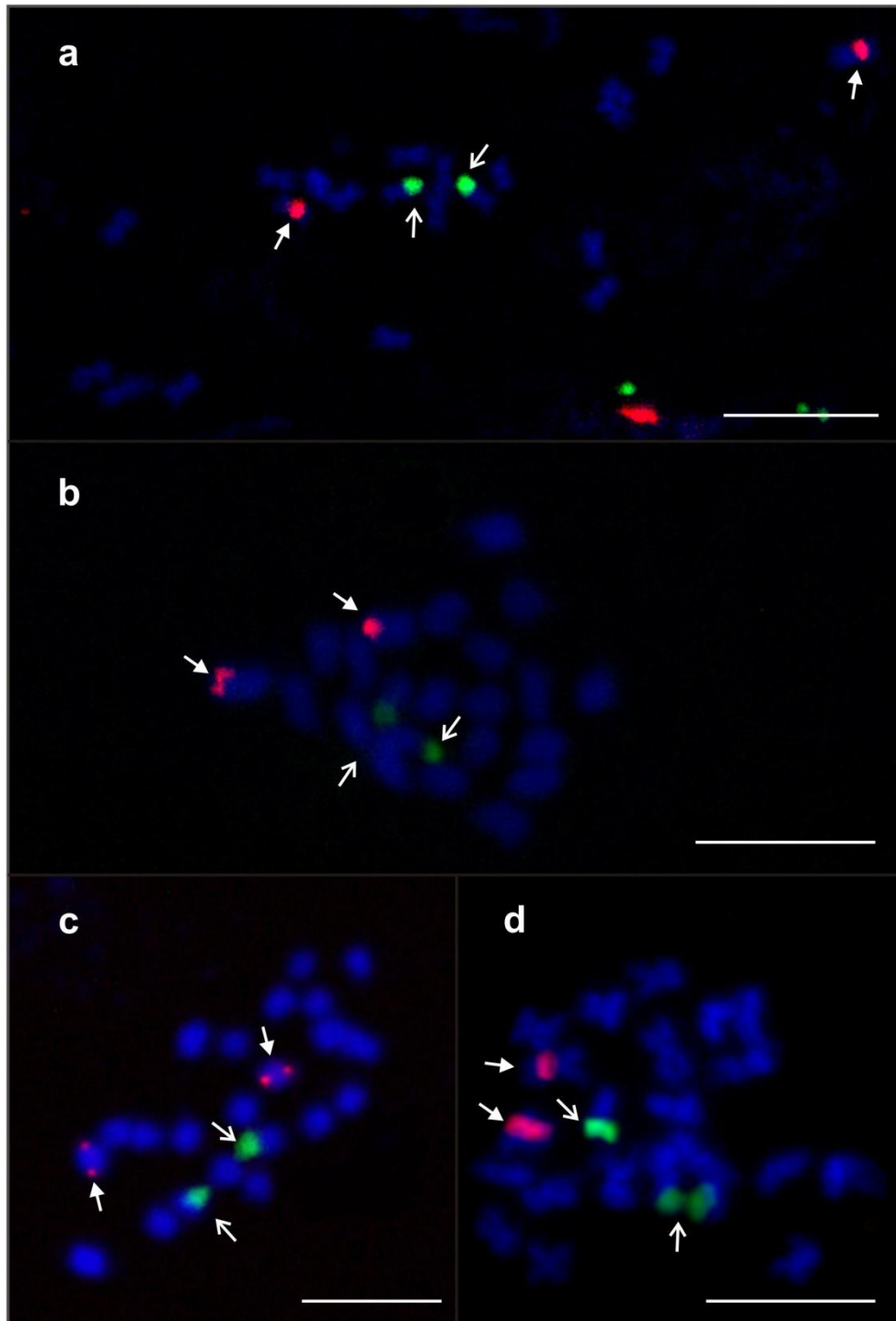


Fig. 13: FISH en *Rhipsalis*. a, *R. baccifera*; b, *R. cereuscula*; c, *R. floccosa* subsp. *hohenauensis*; d, *R. floccosa* subsp. *tucumanensis*. Flechas indican sitios 18-5,8-26S y flechas rellenas sitios 5S. La barra representa 5 μ m.

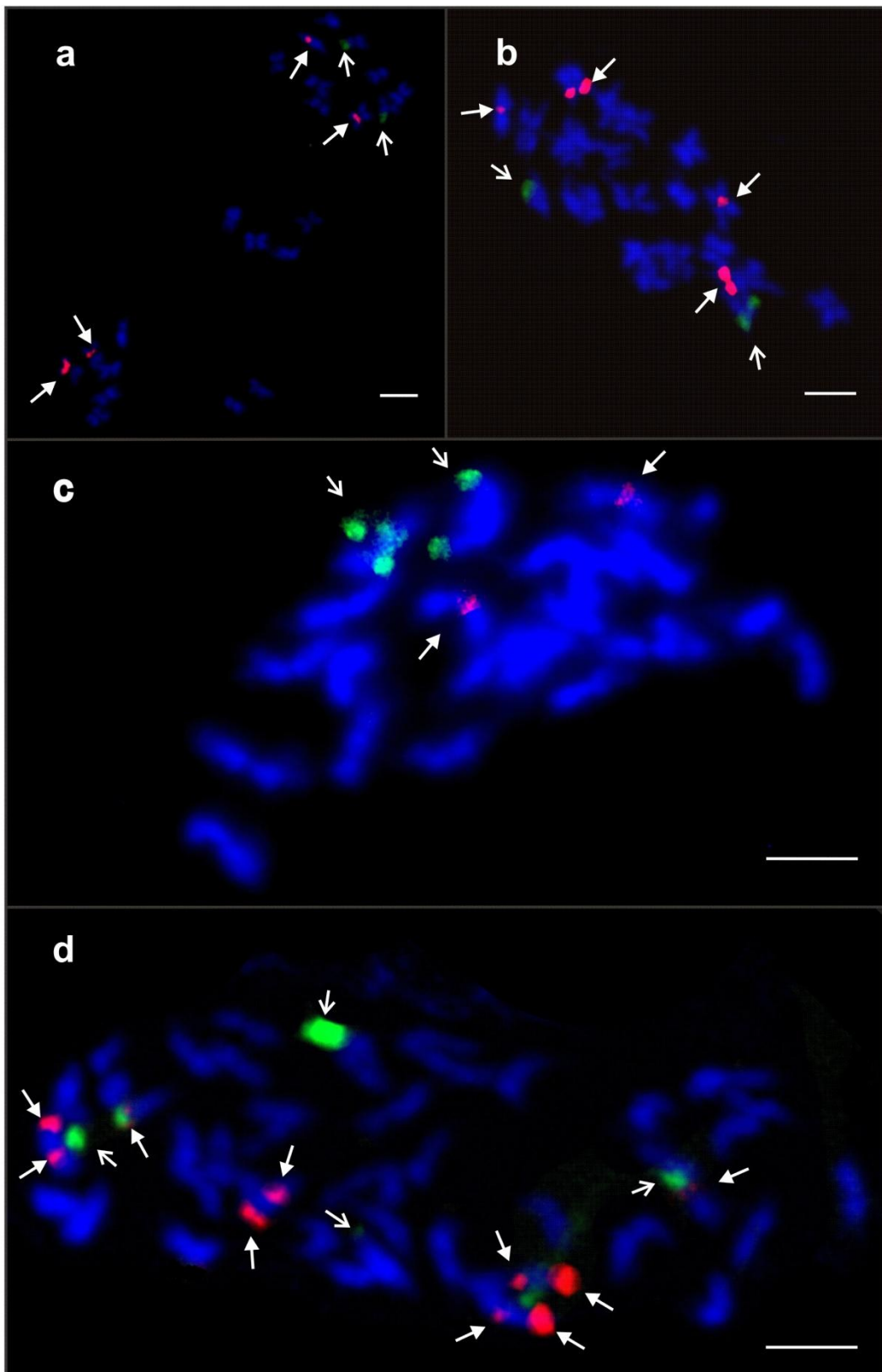


Fig. 14: FISH en a, *Pfeiffera ianthothele*; b, *P. monacantha*; c, *Epiphyllum phyllanthus*; d, *Selenicereus setaceus*. Flechas indican sitios 18-5,8-26S y flechas rellenas sitios 5S. La barra representa 5 μm .

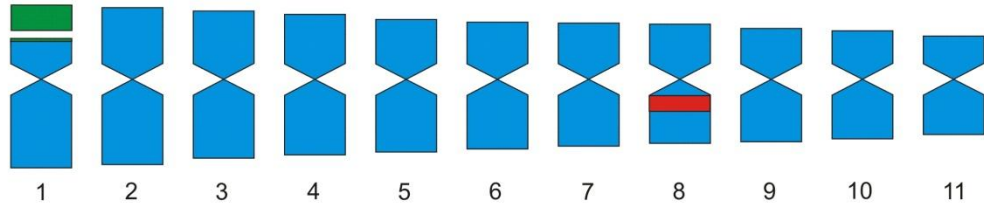
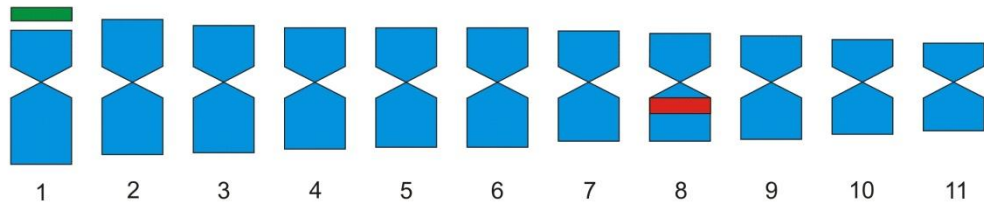
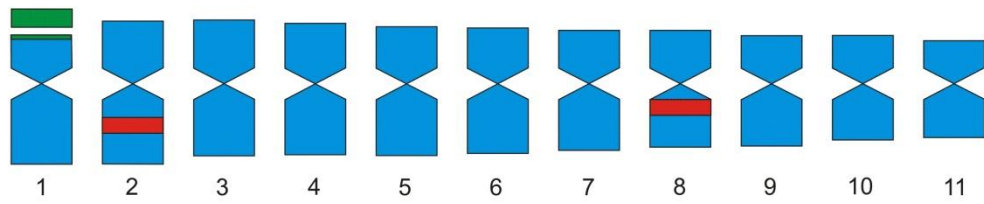
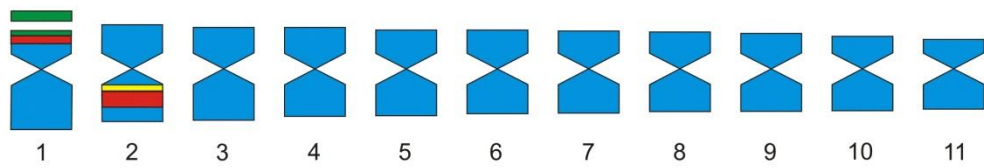
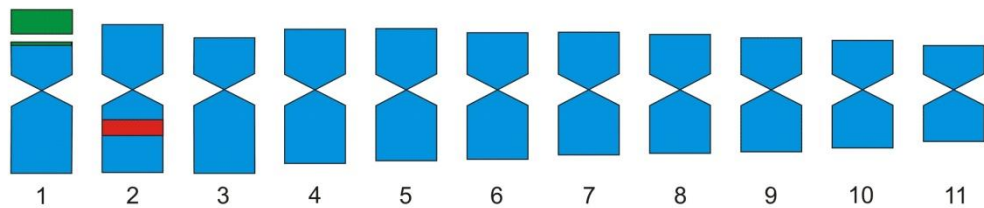
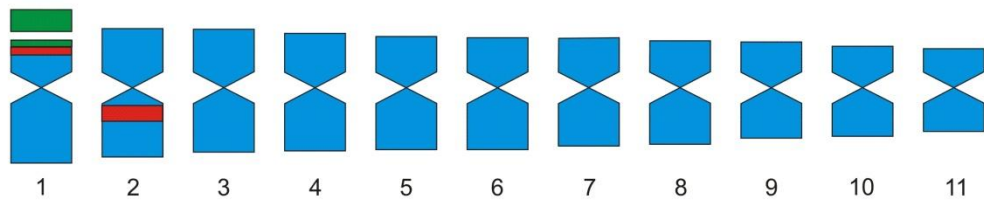
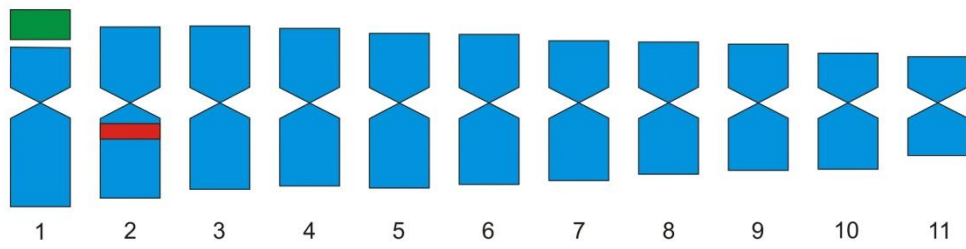
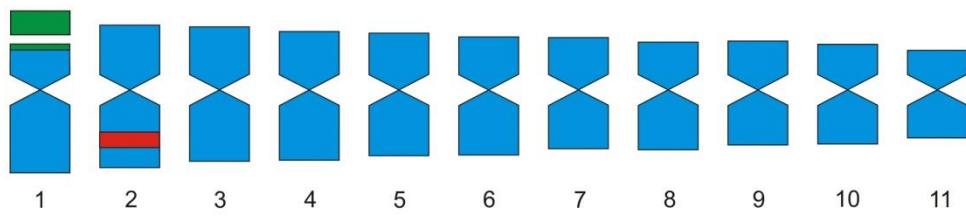
L. aculeatum*L. cruciforme**L. houlettianum**L. lorentzianum**L. lumbricoides**L. warmingianum*

Fig. 15: Idiogramas de especies de *Lepismium*. Todas con $2n=22$. Bloques amarillos = bandas $CMA^+/DAPI^-$. Bloques verdes = locus 18-5,8-26S/ $CMA^+/DAPI^-$. Bloques rojos = locus 5S. Barra = 3 μm .

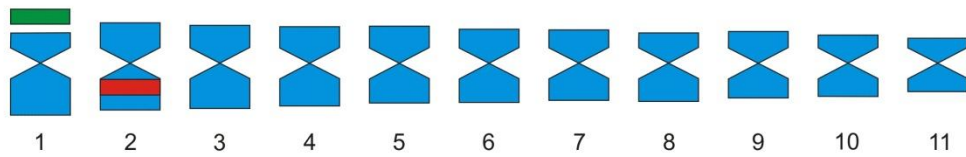
R. baccifera



R. cereuscula



R. floccosa var. *hoenahuensis*



R. floccosa var. *tucumanensis*

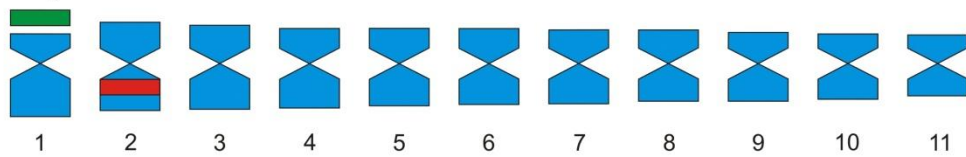
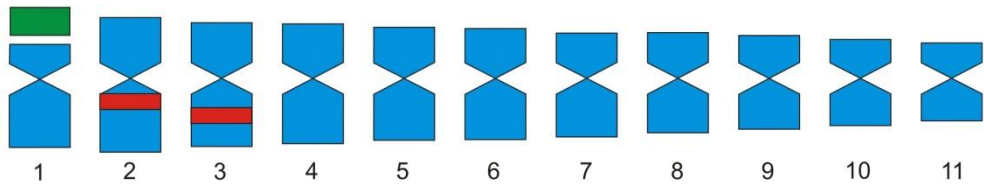
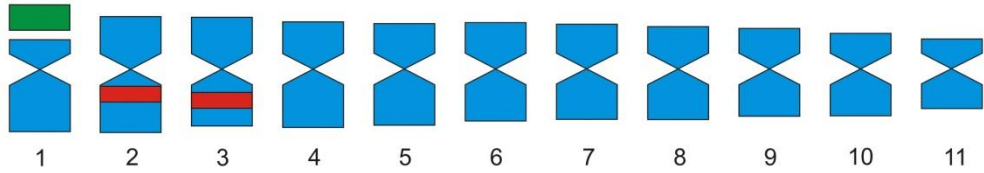


Fig. 16: Idiogramas de especies de *Rhipsalis*. Todas con $2n=22$. Bloques verdes = locus 18-5,8-26S/CMA⁺/DAPI⁻. Bloques rojos = locus 5S. Barra = 3 μ m.

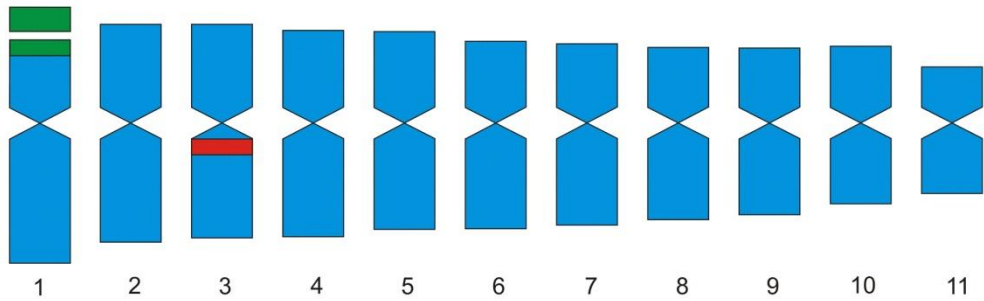
P. ianthothele



P. monacantha



E. phyllanthus



S. setaceus

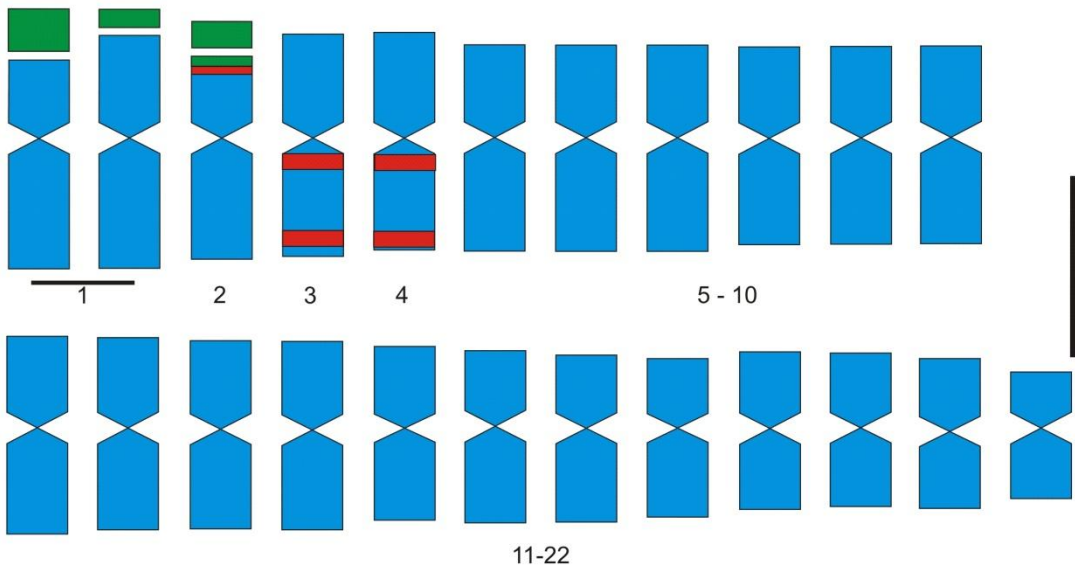


Fig. 17: Idiogramas de especies de *Pfeiffera* ($2n= 22$), *Epiphyllum phyllanthus* ($2n= 22$) y *Selenicereus setaceus* ($2n= 44$). Bloques verdes = locus 18-5,8-26S/CMA⁺/DAPI⁻. Bloques rojos = locus 5S. Barra =3 μ m.

garantizaban la independencia de las réplicas. En la Tabla 4 se observan los valores de significancia obtenidos para cada una de las variables estudiadas. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el largo del cromosoma 1 (c_1), el largo del cromosoma 2 (c_2) y el porcentaje de heterocromatina por genoma haploide (%ht). Las agrupaciones obtenidas luego de las comparaciones múltiples por la prueba de Tukey se resumen en la Tabla 5. El c_1 permite diferenciar a *R. baccifera* de ambas variedades de *R. floccosa*, pero no de los miembros de *Lepismium* y *Pfeiffera*, y tampoco de *R. cereuscula*. Mientras que el c_2 separa a *R. floccosa* subsp. *hohenauensis* de *R. baccifera* y *L. aculeatum* y %ht la separa de *L. cruciforme* y *L. lorentzianum*. Por otro lado, *L. houlettianun*, *L. lumbricoides*, *L. warmingianum* y ambos representantes de *Pfeiffera* no se diferencian entre sí por ninguno de estos caracteres. El resto de las variables estudiadas no presentaron diferencias significativas entre estos taxones.

El fenograma generado mediante el análisis de conglomerados se muestra en la Fig. 18. La correlación cofenética obtenida entre el agrupamiento y los datos estandarizados fue alta ($r = 0,931$). Permitiendo distinguir los siguientes agrupamientos: a) contiene a *S. setaceus*; b) que contiene a las restantes especies y se subdivide en c) conformado por *Lepismium*, las especies de *Rhypsalis* y ambos miembros de *Pfeiffera*; mientras que en d) *E. phyllanthus*.

Tabla 4. Comparación de los resultados surgidos del ANAVA de seis variables cariológicas para todos los taxones de *Lepismium*, *Pfeiffera* y *Rhipsalis* estudiados. c_1 : largo del cromosoma 1; c_2 : largo del cromosoma 2; lt: largo del genoma haploide; C: largo cromosómico promedio; r: índice braquial promedio; %ht: porcentaje de heterocromatina CMA⁺/NORs por genoma haploide; gl: grados de libertad; $p < 0,05$; *: indica diferencias significativas.

Variabes	gl	F	p
c_1	59	3,34	0,0018*
c_2	59	2,79	0,0070*
lt	59	2,54	0,0130
c	59	2,53	0,0133
r	59	1,17	0,3311
% ht	59	5,76	< 0,0001*

Tabla 5. Resultado de las prueba de Tukey para comparaciones múltiples entre las variables seleccionadas en los taxones de *Lepismium*, *Pfeiffera* y *Rhipsalis*. Medias con diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p < 0,05$. c_1 : largo del cromosoma 1; c_2 : largo del cromosoma 2; %ht: porcentaje de heterocromatina CMA⁺/NORs por genoma haploide.

Taxón	Variables		
	c_1	c_2	%ht
<i>L. aculeatum</i>	2,75 ^{ab}	2,70 ^a	1,92 ^{abc}
<i>L. cruciforme</i>	2,49 ^{abc}	2,34 ^{ab}	1,02 ^c
<i>L. houlettianum</i>	2,53 ^{abc}	2,42 ^{ab}	1,66 ^{bc}
<i>L. lorentzianum</i>	2,07 ^{abc}	2,00 ^{ab}	1,07 ^c
<i>L. lumbricoides</i>	2,34 ^{abc}	2,24 ^{ab}	1,90 ^{abc}
<i>L. warmingianum</i>	2,22 ^{abc}	2,14 ^{ab}	1,76 ^{abc}
<i>P. ianthothele</i>	2,29 ^{abc}	2,20 ^{ab}	2,48 ^{ab}
<i>P. monacantha</i>	2,00 ^{abc}	1,88 ^{ab}	2,07 ^{ab}
<i>R. baccifera</i>	3,07 ^a	2,70 ^a	1,89 ^{abc}
<i>R. cereuscula</i>	2,69 ^{abc}	2,44 ^{ab}	1,85 ^{abc}
<i>R. floccosa</i> subsp. <i>hohenauensis</i>	1,58 ^c	1,44 ^b	2,62 ^a
<i>R. floccosa</i> subsp. <i>tucumanensis</i>	1,69 ^{bc}	1,59 ^{ab}	1,86 ^{abc}

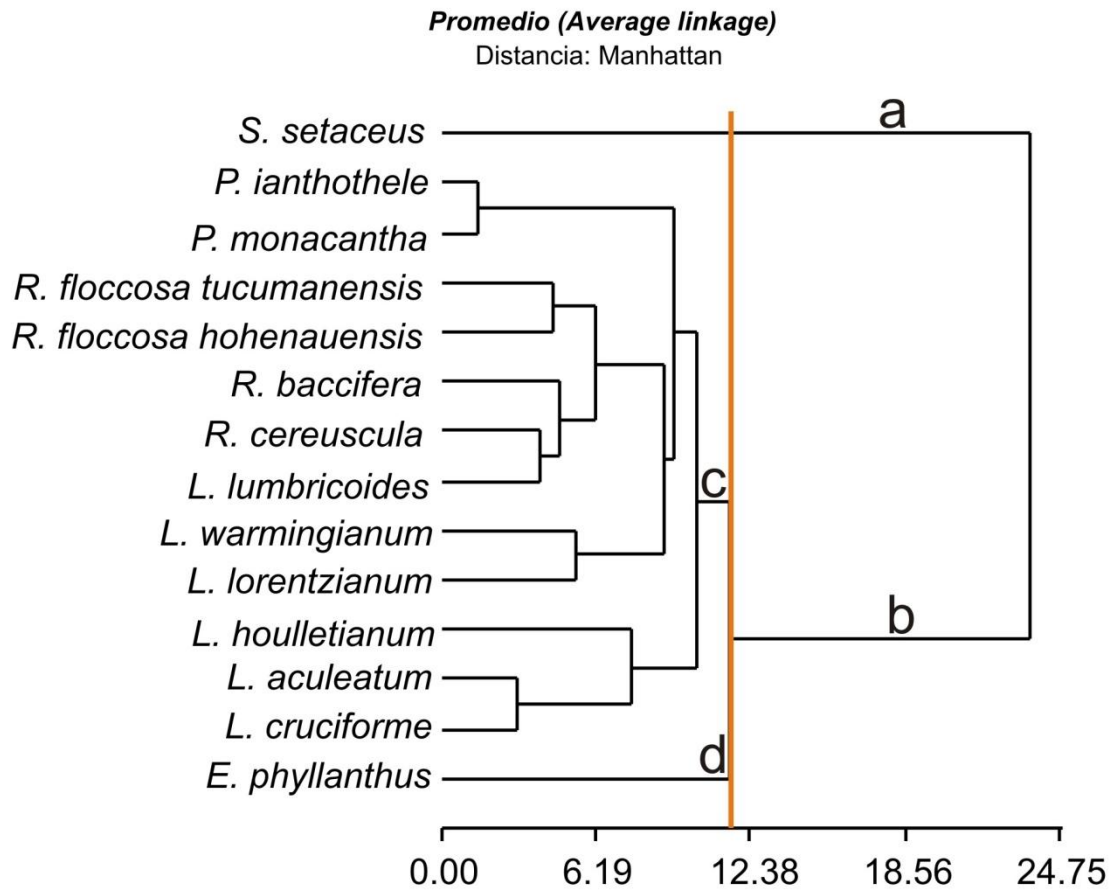


Fig. 15: Fenograma generado mediante análisis de agrupamiento usando la técnica de agrupamiento promedio (UPGMA) entre la especies de cactus epífitos estudiadas utilizando variables cromosómicas. La escala indica valores de disimilitud, la línea verde el 50% de la distancia máxima como punto de corte arbitrario. Las letras indican los agrupamientos considerados.

VII. Evolución de caracteres cromosómicos

El filograma consenso obtenido por regla de mayoría del 50% a partir del conjunto de árboles resultantes del análisis mediante inferencia bayesiana se muestra en la Fig. 19 y el consenso estricto proveniente de los tres árboles obtenidos mediante Máxima Parsimonia en el Anexo IV. En ambos se indican los valores de soporte de *bootstrap* y probabilidades posteriores.

El linaje Rhipsalideae fue monofilético (BS = 100, PP = 1,00) e independiente de *Pfeiffera* y *Epiphyllum phyllanthus*. Ambas especies de *Pfeiffera* también fueron monofiléticas (BS = 100, PP = 1,00). Las seis especies de *Lepismium* resultaron monofiléticas; estas se dividieron en dos clados hermanos, uno formado por *L. lorentzianum* y *L. warmingianum* (BS = -, PP = 1) y otro formado por las especies restantes (BS = -, PP = 0,96). En este último, *L. lumbricoides* es taxón hermano de *L. cruciforme* y *L. houlettianum* (BS = -, PP = 0,75). Por otro lado, los miembros de *Rhipsalis* resultaron monofiléticos (BS = 100, PP = 1), las diferentes subespecies de *R. baccifera* se recuperaron monofiléticas (BS = -, PP = 0,97) y todas hermanas a *R. cereuscula* (BS = -, PP = 0,73). Sin embargo *R. floccosa* subsp. *hohenauensis* no resultó monofilética respecto de resto de las subespecies de *R. floccosa* (Fig. 19).

Ambos métodos de reconstrucción de estados ancestrales arrojaron resultados semejantes en general. A continuación se detallan y muestran los resultados obtenidos por Máxima Parsimonia (Figs. 20, 21), además de las probabilidades obtenidas por Máxima Verosimilitud (LP), en el Anexo VI se muestran los gráficos obtenidos por Máxima Verosimilitud. Todos los caracteres aparecieron una o más veces en el clado Rhipsalideae. La presencia de dos loci 18-5,8-25S es común a todo el clado (Fig. 20 a). El estado de cuatro loci 5S apareció dos veces en *Lepismium* (LP = 0,52 y LP = 0,45; Fig. 20 b). Por otra parte, la sintenia de los loci ribosomales surgió una única vez en *Lepismium* a partir del estado asinténico (LP = 0,99; Fig. 17 c). La ubicación de los loci 5S en el segundo par cromosómico cambió una vez al primer par en el clado *L. lorentzianum/L. warmingianum* (LP = 0,99; Fig. 17 d); y al par cromosómico 8 dos veces: una en *L. cruciforme* (LP = 0,99; Fig. 21 c) y otra en *L. aculeatum* (LP = 0,99; Fig.

21 c). Por último, la aparición de heterocromatina no asociada a NORs apareció una única vez en *L. lorentzianum* (LP = 0,99; Fig. 21 d).

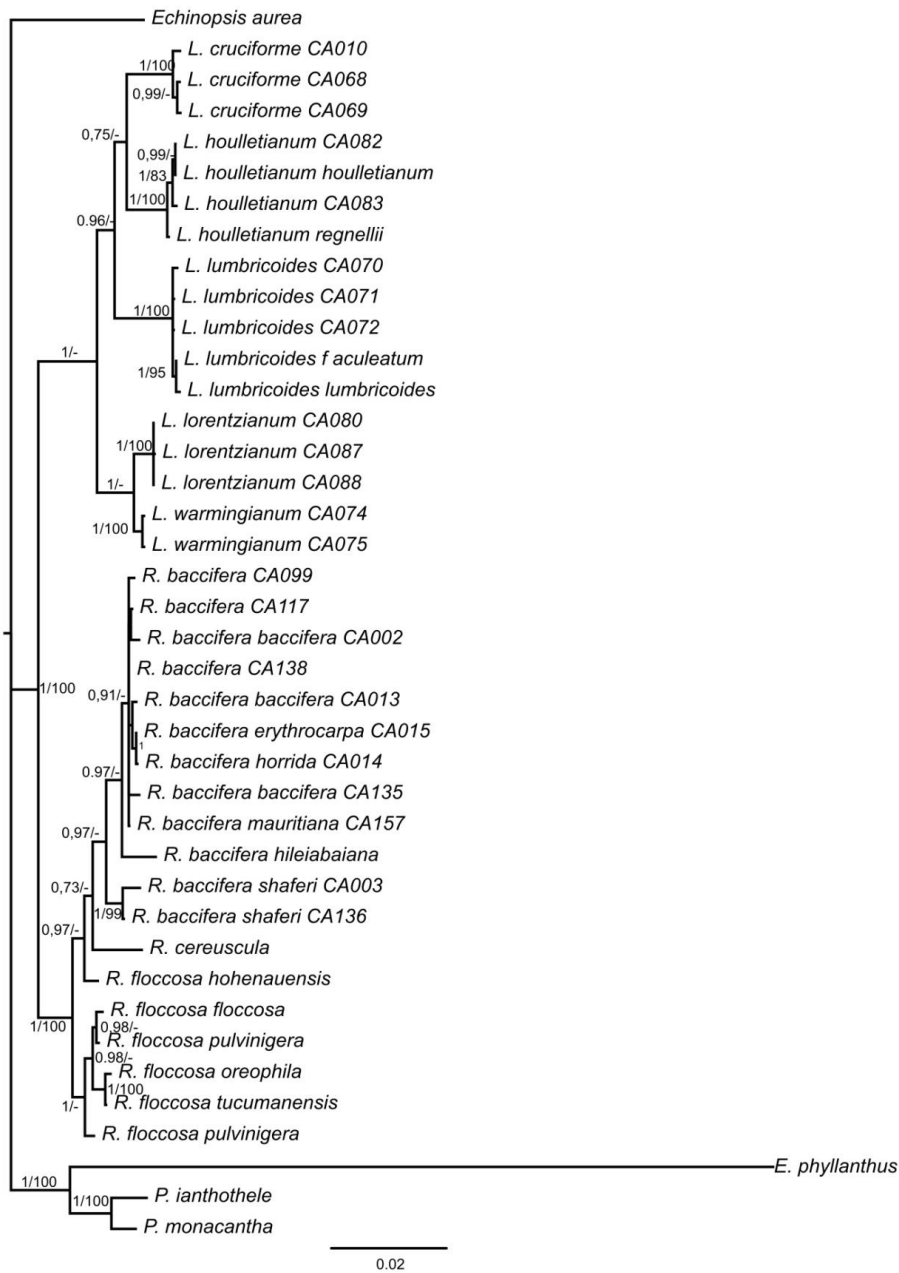


Fig. 19: Consenso obtenido por regla de mayoría (50%) a partir del análisis de Inferencia Bayesiana de la matriz de datos seis fragmentos de ADN cloroplastídico. Los valores de probabilidades posteriores bayesianas y el bootstrap de parsimonia se muestran sobre las ramas, solo se consideraron valores superiores a 0,70/70%.

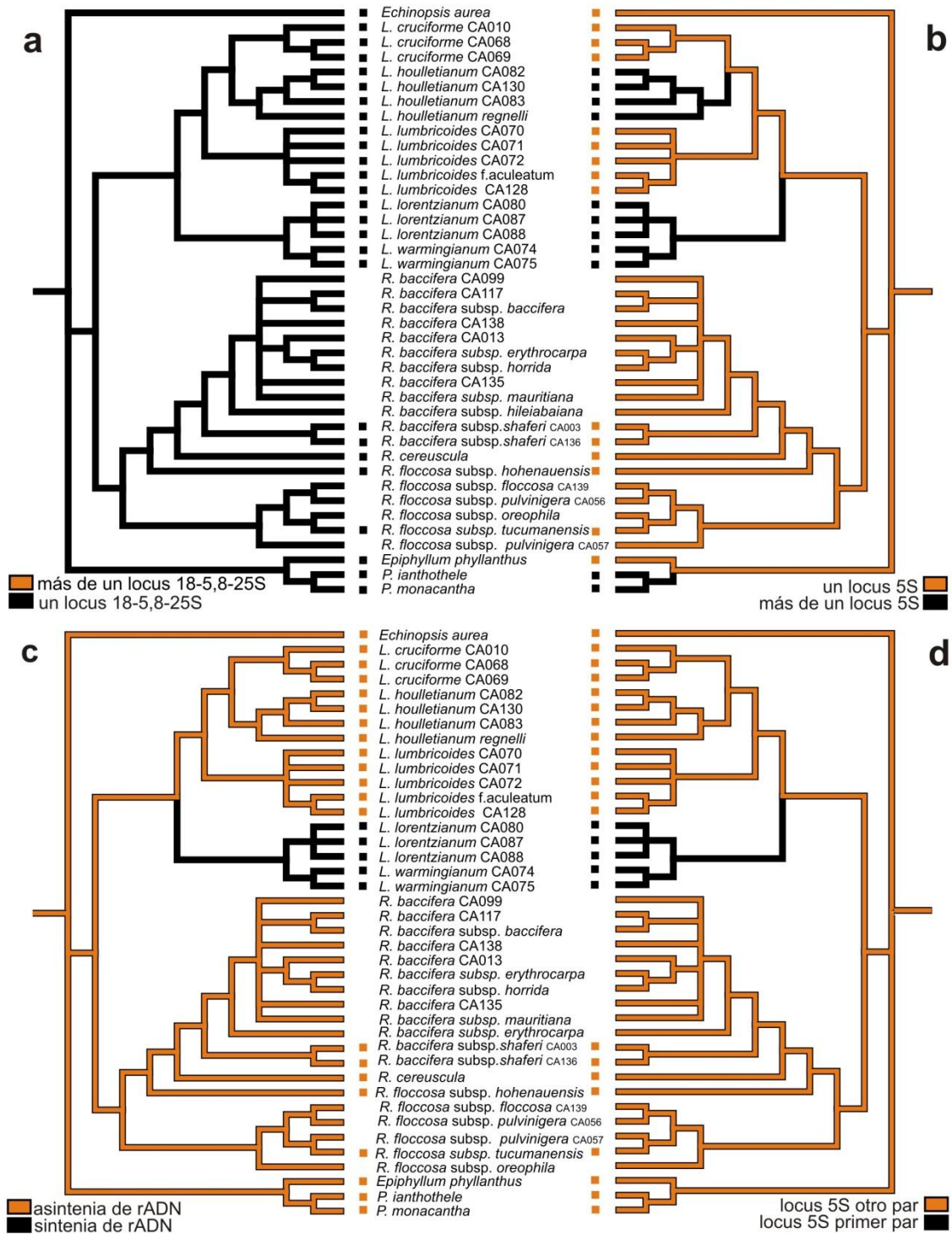


Fig. 20: Reconstrucción de caracteres ancestrales mediante parsimonia sobre el filograma obtenido por inferencia bayesiana. a, Número de locus 18-5,8-25S. b, Número de locus de 5S. c, Sintenia de genes ribosómicos. d, Ubicación de locus 5S. Los recuadros de colores en los terminales corresponden a los datos de la matriz, la usencia corresponde a dato faltante.

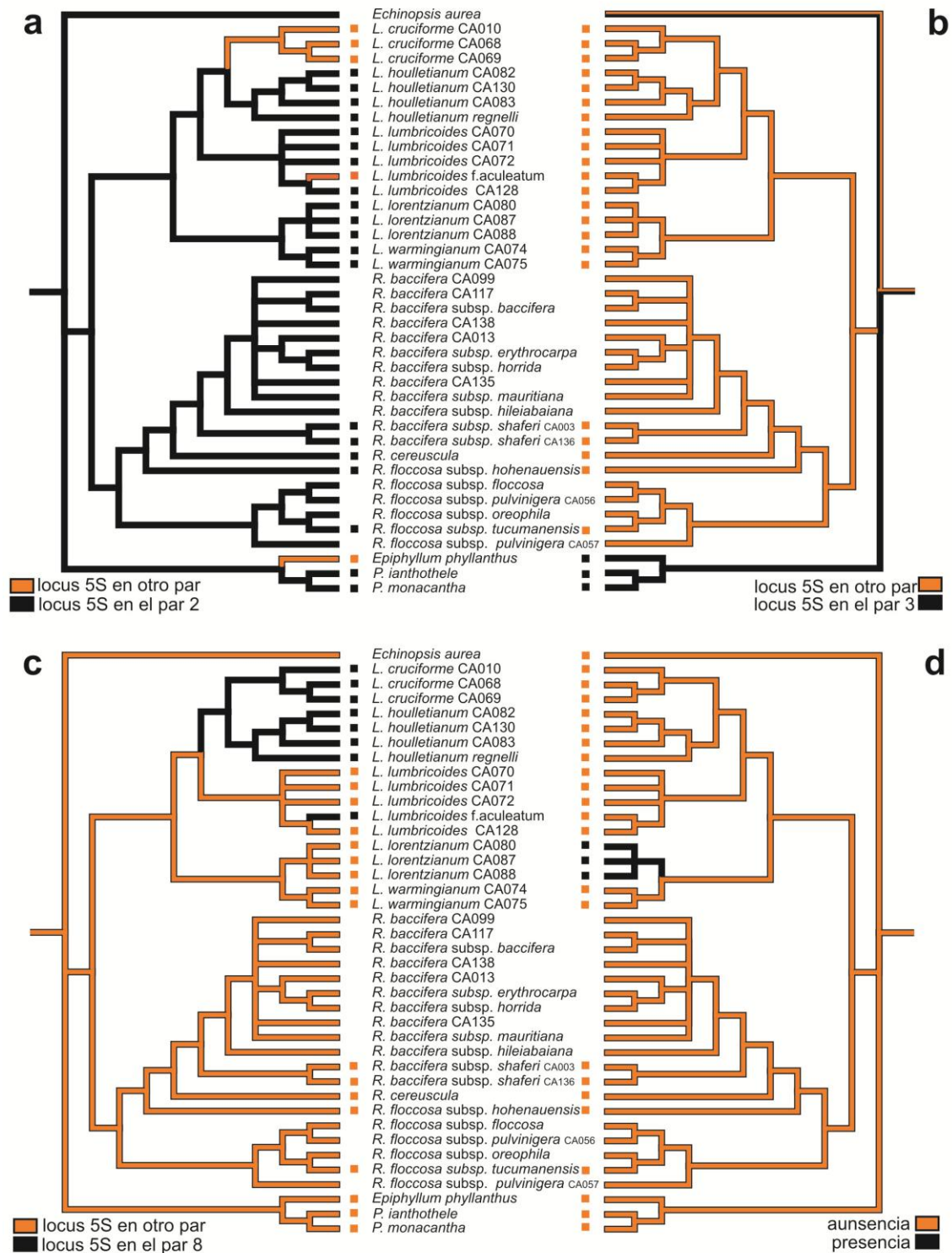


Fig. 21: Reconstrucción de caracteres ancestrales mediante parsimonia sobre el filograma obtenido por inferencia bayesiana. a, Ubicación locus 5S en el par 2. b, Ubicación locus 5S en el par 3. c, Ubicación locus 5S en el par 8. d, Heterocromatina no asociada a NORs. Los recuadros de colores en los terminales corresponden a los datos de la matriz, la usencia corresponde a dato faltante.

DISCUSIÓN

I. Número cromosómico y poliploidía.

El número cromosómico es la característica cariotípica más usada en los análisis citotaxonómicos. En Angiospermas los valores más frecuentes son $n = 7-20$ (Grant 1982); sin embargo, puede variar unas 160 veces, oscilando entre $n = 2$ (Asteraceae: *Brachycome dichromosomatica*, *Haplopappus gracilis*; Hyacinthaceae: *Ornithogalum tenuifolium*; Poaceae: *Colpodium versicolor*, *Zingeria biebersteiniana*; Cyperaceae: *Rhynchospora tenuis*, cf. Ruffini Castiglioni & Cremonini 2012) y $n = ca. 300-320$ (Arecaceae: *Voanioala gerardii*, Röser 1994; Crassulaceae: *Sedum suaveolens*, Uhl 1978). No obstante, los números cromosómicos en algunas familias son variables (e.g. Asteraceae, Fabaceae, Iridaceae, Solanaceae) y en otras se mantiene constante entre todos sus miembros (e.g. Bromeliaceae, Magnoliaceae, Velloziaceae). Por otro lado, la poliploidía es la variación cromosómica más frecuente en plantas. La ocurrencia de poliploides en Angiospermas varía entre un 30 – 70%, dependiendo de las consideraciones tomadas para el cálculo de los porcentajes (Masterson 1994, Guerra 2008, Husband *et al.* 2013). Esta variación sugiere que entre los grupos taxonómicos existe una diferente predisposición al surgimiento de poliploides, o distintas velocidades para acumular poliploides, o bien ambas (Meyers & Levin 2006).

En Cactaceae, el número cromosómico básico es $x = 11$, este guarismo se ha confirmado para las cuatro subfamilias (e.g. Beard 1937, Di Fulvio 1977, Kiesling 1980, Ross 1981, Leuenberger 1986, 1997, Pinkava & Parfitt 1982, Pinkava *et al.* 1985, Cota & Philbrick 1994, Cota & Wallace 1996, Arakaki *et al.* 2007, Las Peñas 2009, Mihalte *et al.* 2011, Majure *et al.* 2012). Las variaciones son excepcionales tales como $2n = 14$ en *Rhipsalis floccosa* subsp. *piettieri* (= *R. piettieri*, Pankin 1999), $2n = 34$ reportado para *Schlumbergera truncata* (Ortolani *et al.* 2007), y un recuento meiótico $n = 12$ en *Selenicereus testudo* (= *Daemia testudo*, Bhattacharyya 1970). En cuanto a la poliploidía, es considerada como el principal mecanismo de evolución cromosómica entre las Cactáceas (Ross 1981, Pinkava *et al.* 1985, Arakaki *et al.* 2007, Las Peñas 2009); sin embargo, no ocurre de manera uniforme en las diferentes subfamilias. En

Pereskioideae no existen antecedentes de este fenómeno y para Maihueinoideae se reportó una única población tetraploide en *Maihueia patagónica* (Las Peñas *et al.* 2009, 2013). Por otra parte en Cactoideae y Opuntioideae, la poliploidía se encuentra ampliamente distribuida abarcando taxones con múltiples citotipos (e.g. *Cylindropuntia cholla*, Pinkava & Parfitt 1982, Baker *et al.* 2009; *Trichocereus candicans*, Las Peñas 2009; *Opuntia hemifusa* s.l., Majure *et al.* 2012) así como también, géneros completos constituidos por poliploides (e.g. *Consolea*, Negrón-Ortiz 2007). No obstante los miembros de los linajes epífitos de Cactoideae, salvo excepciones, son diploides.

Las especies de Hylocereineae aquí estudiadas (*E. phyllanthus*, $2n = 22$ y *S. setaceus*, $2n = 44$) coinciden con los recuentos previos realizados en otros miembros del linaje (tres especies de *Epiphyllum*, once de *Disocactus*, nueve de *Hylocereus*, siete de *Selenicereus* y *Weberocereus glaber*) que reportaron sólo diploides; excepto *S. megalanthus* y *S. setaceus* que resultaron tetraploides (Beard 1937, Spencer 1955, Peev 1976, Kamble 1993, 1997, Thomson 1993, Lichtenzveig *et al.* 2000, Grimaldo-Juárez *et al.* 2001). La poliploidía en *S. megalanthus* y *S. setaceus* ha sido asociada a eventos de hibridación intergenéricos entre *Hylocereus* y *Selenicereus*, debido a las características fenotípicas intermedias de estas especies ya que en su aspecto vegetativo semejan a *Hylocereus* pero sus frutos están recubiertos de espinas como es característico en *Selenicereus* (Britton & Rose 1919-23, Barthlott & Hunt 1993, Lichtenzveig *et al.* 2000). A pesar de que esta hipótesis del origen híbrido no fue verificada por estudios citológicos en poblaciones naturales, se han obtenido híbridos artificiales entre especies de ambos géneros con distintos niveles de ploidía: triploides, pentaploides y hexaploides (cf. Lichtenzveig *et al.* 2000, Tel-Zur *et al.* 2004, 2005, 2012).

En Rhipsalideae, los recuentos aquí realizados concuerdan con los antecedentes previos para todas las especies (cf. Peev 1976, Gadella *et al.* 1979, Ross 1981, Pankin 1999, 2005) y los nuevos guarismos reportados son todos diploides (*Lepismium lorentzianum*, *L. lumbricoides* y *R. floccosa* subsp. *hohenauensis*). Esto coincide con los antecedente del grupo que fueron siempre diploides con $2n = 22$,

excepto algunas poblaciones de *R. baccifera* tetraploides ($2n = 44$) y octoploides ($2n = 88$) (Barthlott 1983, Cota-Sánchez & Bomfin-Patricio 2010), y los aneuploides *R. floccosa* subsp. *piettieri* (Pankin 1999) y *Schlumbergera truncata* (Ortolani *et al.* 2007). Las poblaciones de *R. baccifera* evaluadas fueron siempre diploides, ratificando la hipótesis propuesta por Barthlott (1983), sobre la distribución geográfica de los niveles de ploidía: los diploides en centro y sudamérica, tetraploides hacia el extremo norte de su distribución en América (sur de Estados Unidos) y finalmente tetraploides y octoploides en los Paleotrópicos.

Por último, los recuentos de *Pfeiffera ianthothele* y *P. monacantha*, ambas diploides, corroboran los recuentos previos (Peev 1976, Gadella *et al.* 1979). Sin embargo estas especies son los únicos miembros evaluados citológicamente del linaje y el clado *P. boliviana* (Korotkova *et al.* 2010) permanece aún inexplorado.

II. Características cariotípicas

El cariotipo es el mayor nivel de organización estructural y funcional del genoma nuclear. Los cromosomas que lo componen cambian su tamaño y forma ya sea por ganancia (eg. duplicación, translocación) o pérdida (eg. delección) de segmentos o por rearrreglos dentro y/o entre los cromosomas de un complemento (Schubert & Lysak 2011). Mediciones de los cromosomas mitóticos y sus características resultaron útiles para cuantificar diferencias entre los cariotipos de especies cercanamente relacionadas (e.g. Bernardello *et al.* 2008, Peruzzi *et al.* 2009, Souza *et al.* 2010). El largo promedio de los cromosomas metafásicos en Angiospermas varía desde aproximadamente $0,60 \mu\text{m}$ a poco más de $14,00 \mu\text{m}$ y la diferencia de tamaño entre los cromosomas de un mismo complemento también oscilan entre $1,00 - 10,00 \mu\text{m}$. Ambas características están determinadas por el tamaño de genoma, el número cromosómico y la estructura del cariotipo en su conjunto (Levin & Funderburg 1979, Schubert 2007). En Cactaceae, el largo cromosómico ronda entre $1,50 - 4,00 \mu\text{m}$, por lo que son considerados de tamaño pequeño y, dentro de cada complemento, las diferencias de tamaño son escasas (Palomino *et al.* 1988, Cota & Wallace 1995, Cid & Palomino 1996, Das *et al.* 1998 a, b, Bandyopadhyay & Sharma 2000, Palomino &

Heras 2001, Briones *et al.* 2004, Del Angel *et al.* 2006, Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2008, 2011, 2013). Los datos métricos para miembros de Hylocereineae son escasos. Los valores medios aquí obtenidos para *E. phyllanthus* y *S. setaceus* (3,09 μm y 3,08 μm , respectivamente) son semejantes a los reportados por Grimaldo-Juárez *et al.* (2001) que analizaron seis genotipos de *Hylocereus* sp. cuya longitud cromosómica promedio varió entre 3,21 - 3,98 μm . En cuanto a Rhipsalideae, los únicos antecedentes de longitudes cromosómicas para algunas de las especies estudiadas son los de Pankin (1999, 2005) que reportan 3,35 μm para *L. houlettianum*; este valor es ligeramente mayor a los aquí obtenidos (2,24 μm) lo que puede deberse a variaciones dado el origen diferente del material o a diferencias en el procesamiento del mismo. Las especies restantes fueron evaluadas cuantitativamente por primera vez, pero si comparamos nuestros resultados con otros miembros del linaje, los valores son semejantes (*Hatiora epiphylloides* subsp. *epiphylloides*: 3,03 μm , *R. floccosa* subsp. *pittierii*: 2,68 μm , Pankin 2005; *Schlumbergera truncata*: 2,70 μm y el híbrido *S. x buckleyi*: 2,75 μm , Ortolani *et al.* 2007). Por último, *Pfeiffera ianthothele* y *P. monacantha* fueron estudiadas por primera vez, su largo cromosómico medio es semejante al resto de las especies epífitas que estudiamos (1,69 μm) y a los cactus en general.

En lo concerniente a la morfología cromosómica en Cactaceae se encuentran mayormente cromosomas *m* y uno o dos pares *sm* (cf. Cota & Wallace 1995, Cid & Palomino 1996, Das *et al.* 1998 a, b, 1999, Bandyopadhyay & Sharma 2000, Palomino & Heras 2001, Briones *et al.* 2004, Del Angel *et al.* 2006, Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2008, 2011, 2013). No obstante, se describieron eventualmente uno o dos pares de cromosomas *st* en el tetraploide de *Mammillaria prolifera* (Johnson 1980), *Echinopsis aurea*, *E. eyriesii*, *E. kermesina*, *E. mammillosa*, *E. tubiflora* (Das & Mohanty 2006), *Pyrhocactus catamarcensis* (Las Peñas *et al.* 2008) y varios miembros de la sección *Digitorebutia* (Mosti *et al.* 2011). En lo que respecta a las especies aquí evaluadas se encontraron sólo cromosomas *m*. Coincidiendo con las tres poblaciones de *L. houlettiana* estudiadas por Pankin (1999, 2005), que son los únicos cariotipos reportados para algunos de los taxones estudiados. Otros miembros de Rhipsalideae también presentan solo cromosomas *m*, como *Hatiora epiphylloides* (Pankin 2005), o

mayormente *m* como *R. floccosa* subsp. *pittierii* con un único par *sm* (Pankin 1999) y *Schlumbergera truncata* y *S. x buckleyi* con tres pares de *sm* (Ortolani *et al.* 2007). Por otro lado, cabe mencionar que Beard (1937) describió el complemento de *Mediocactus coccineus* (= *S. setaceus*) como conformado por: $6 st + 4 t + 8 m + 4 sm$, este difiere completamente con nuestros resultados de 22 *m* para el mismo taxón, una posible causa de esta variación pueden ser diferencias en la técnica del procesamiento del material. No obstante, si comparamos nuestros resultados con la morfología cromosómica reportada para otras especies de Hylocereineae, éstos son semejantes, encontrándose mayormente cromosomas *m* con uno o dos pares *sm* (Grimaldo-Juárez *et al.* 2001).

En cuanto a la constricción secundaria, en Angiospermas aproximadamente en un 86% de los casos está localizada sobre el brazo corto del cromosoma, lo que sugiere que esta ubicación cromosómica no es al azar (Lima de Faria 1976, Heslop-Harrison & Schwarzacher 2011, Guerra 2012). La presencia de la constricción secundaria asociada al brazo corto de un par *m* después de la tinción convencional es común en Cactaceae (Cid & Palomino 1996, Das *et al.* 1998 a, b, 1999, Palomino *et al.* 1999, Bandyopadhyay & Sharma 2000, Grimaldo-Juárez *et al.* 2001, Briones *et al.* 2004, Das & Mohanty 2006, Del Angel *et al.* 2006, Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2008, 2009, 2011, 2013) y coincide con todas las especies de cactus epífitos que nosotros evaluamos. A pesar de esto, Pankin (1999, 2005) detectó la constricción secundaria asociada al brazo largo en *R. floccosa* subsp. *pittierii* y tres poblaciones de *L. houletianum*, además en dos de estas últimas sólo se las distingue en un único miembro del homólogo (heteromórficas), sugiriendo que estas especies presentan cierta variabilidad intraespecífica. Por otro lado, el número de constricciones secundarias si bien es variable entre grupos de plantas, no suele ser así entre especies cercanamente relacionadas (Małuszynska & Heslop Harrison 1993, Weiss-Schneeweiss & Schneeweiss 2013). Las Peñas (2009), luego de una revisión de 17 géneros de cactáceas propone que por genoma diploide se evidencia un par de constricciones secundarias en el par de mayor tamaño (cf. Remski 1954, Ross 1981, Las Peñas *et al.* 2009, 2011, 2013). Sin embargo, en algunos géneros de Cactáceas el número de satélites es mayor (*Echinocereus*, Cota & Wallace 1995; *Myrtillocactus*, Cid & Palomino

1996; *Melocactus*, Das *et al.* 1998 a; *Ferocactus*, Das *et al.* 1999; *Opuntia*, Bandyopadhyay & Sharma 2000; *Hylocereus*, Grimaldo-Juárez *et al.* 2001; *Mammillaria*, Briones *et al.* 2004; *Echinopsis*, Das & Mohanty 2006), pero un par de ellos mantiene su ubicación en los cromosomas de mayor tamaño. En lo que respecta al tetraploide *Selenicereus setaceus*, no se detectaron las constricciones secundarias mediante la tinción convencional; no obstante se reportaron dos pares en *Mediocactus coccineus* (= *S. setaceus*, Beard 1937), lo que posteriormente confirmamos mediante las otras técnicas.

En general la mayoría de las Angiospermas tienen cariotipos uniformes y simétricos, es decir poseen cromosomas *m* o *sm* semejantes entre sí (Stebbins 1971); Cactaceae no es la excepción. El origen reciente de esta familia (cf. Arakaki *et al.* 2011) podría asociarse a procesos de mutaciones cromosómicas en sus complementos y a la existencia de cariotipos simétricos entre sus miembros; esto puede explicarse por fusiones o fisiones en los centrómeros de sus cromosomas originando cariotipos homogéneos (Cota & Wallace 1995, 1996, Cid & Palomino 1996, Das *et al.* 1998 a, b, 1999, Palomino *et al.* 1999, Bandyopadhyay & Sharma 2000, Grimaldo-Juárez *et al.* 2001, Briones *et al.* 2004, Del Angel *et al.* 2006, Ortolani *et al.* 2007, Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2008, 2009, 2011, 2013). Nuestros resultados coinciden con esta tendencia de homogeneidad cariotípica tanto en el tamaño, como en la morfología de los complementos cromosómicos.

III. Heterocromatina: composición, localización y contenido.

La heterocromatina es un constituyente del genoma, generalmente compuesto por secuencias heterogéneas, elementos móviles o repeticiones en tándem. Aunque eventualmente puede contener algunos genes como los organizadores nucleolares (NORs) (Bennetzen 2000, Lamb *et al.* 2007, Weiss-Schneeweiss & Schneeweiss 2013). En angiospermas, su naturaleza y distribución se ha aplicado con fines taxonómicos permitiendo identificar pares homólogos y esclarecer relaciones entre especies emparentadas (Guerra 2000, Heslop-Harrison & Schwarzacher 2011, Weiss-Schneeweiss & Schneeweiss 2013). Sin embargo, en Cactaceae en particular son

escasos los antecedentes en donde se identifica el componente de heterocromatina del genoma (Ortolani *et al.* 2007, Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2008, 2009, 2011, 2013). En los 14 representantes de los cinco géneros de cactus epífitos estudiados se encontró solo heterocromatina rica en pares de base GC, esto coincide con los resultados de Las Peñas (2009), quien revisó la naturaleza de la heterocromatina con tinciones fluorescentes en diferentes géneros abarcando miembros de las cuatro subfamilias de Cactaceae y encontró que las secuencias ricas en CG son predominantes, mientras que las ricas en AT son excepcionales (e.g. *Pyrrhocactus catamarcensis*, Las Peñas *et al.* 2008).

En lo que respecta a la distribución de las bandas heterocromáticas en todos los taxones un par de bandas se asociaron a los cromosomas portadores de los NORs, abarcando la porción del satélite cromosómico y el extremo distal del brazo portador del NOR como se ha descrito para otros miembros de Cactaceae (Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2008, 2009, 2011, 2013) y para Angiospermas en general (Guerra 2000, Weiss-Schneeweiss & Schneeweiss 2013). Bandas no asociadas a NORs fueron detectadas en la región paracentromérica solo en *L. lorentzianum*, como también se encontró en otros diploides como *Acanthocalycium spiniflorum* y en los tetraploides *Cumulopuntia recurvata* y *Maihuenia patagónica* (Las Peñas *et al.* 2009). Esta parece ser una característica única de *L. lorentzianum* y no del género.

La cantidad de heterocromatina y el número de bandas es variable, pero relativamente conservados a nivel genérico (Ran *et al.* 1999, Pedrosa *et al.* 2000, Las Peñas *et al.* 2006, Gaiero *et al.* 2012, Moreno *et al.* 2012) como nosotros reportamos para *Lepismium*, *Rhipsalis* y *Pfeiffera*; no obstante sería necesario estudiar más taxones de Hylocereinae para poder establecer las tendencias en este linaje. Por otra parte respecto al heteromorfismo en el tamaño de las bandas en *L. aculeatum*, esto resultó una característica particular de este taxón pudiendo deberse a eventos de entrecruzamiento desigual o a deleciones en un miembro del par homólogo (Gaeta & Pires 2010, Souza *et al.* 2012). Finalizando, en *Rhipsalis* se encontró una correlación negativa entre el largo del cariotipo y el contenido relativo de heterocromatina, este tipo de tendencia se reportó también en *Pyrrhocactus* (Las Peñas *et al.* 2008) y en

otros grupos de plantas (Guerra *et al.* 2000, Acosta 2006). Sin embargo es opuesto a lo reportado para otros géneros de Angiospermas (Benko-Iseppon & Morawetz 2000, Kao *et al.* 2001, Moscone *et al.* 2003, Chiarini *et al.* 2013, Scaldaferrero *et al.* 2013). Es necesario estudiar representantes de los subgéneros faltantes de *Rhipsalis* para confirmar dicha correlación.

IV. Genes ribosómicos: número y localización.

Los genes 18-5,8-25S y 5S están presentes en el genoma como repeticiones en tándem, generalmente independientes entre sí; ambos se organizan en bloque durante el proceso evolutivo (Heslop-Harrison & Schwarzacher 2011). Estas características permiten usarlos como marcadores físicos de cambio cromosómico (e.g. Lim *et al.* 2000, Vanzela *et al.* 2003, Hasterok *et al.* 2006, Weiss-Schneeweiss *et al.* 2008). Numéricamente las plantas muestran algún grado de conservación en los genes ribosomales, tal que cuando múltiples loci aparecen estas especies son comúnmente poliploides (Lan & Albert 2011). Esto coincide con nuestros resultados, los cuales muestran que en los taxones diploides se encuentra un locus para 18-5,8-25S y otro para 5S, como también ha sido reportado para otros miembros de Cactaceae (cf. Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2009, 2013). La presencia de dos sitios 18-5,8-25S es uno de los números modales en angiospermas (Roa & Guerra 2012) y en Cactaceae su número tiende a aumentar con la ploidía, como se observó en *S. setaceus* que es tetraploide y presenta dos loci 18-5,8-25S por genoma haploide, corroborando que el número de locus 18-5,8-25S podría usarse en Cactáceas como indicador de nivel de ploidía (Lichtenzweig *et al.* 2000, Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2009, 2013). En lo que concierne al gen ribosomal 5S presenta mayor variabilidad, ya que en algunos taxones diploides tales como *L. lorentzianum*, *L. houlettianum*, *L. warmingianum* y ambas especies de *Pfeiffera* se localizaron dos loci por complemento haploide; este aumento en el número de loci 5S parece ser más frecuente en Cactoideae que en las restantes subfamilias en donde el número de loci es proporcional a la ploidía (Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2011, 2013). De manera semejante en el poliploide *S. setaceus* se visualizaron más loci 5S que los esperados por su nivel de ploidía, a diferencia de otras

cactáceas tetraploides previamente evaluadas (*Cumulopuntia recurvata*, *Maihueniopsis glomerata*, *Trichocereus candicans*, Las Peñas 2009; *Maihuenia patagónica*, Las Peñas *et al.* 2013).

La localización de los genes ribosomales 18-5,8-25S en todos los taxones evaluados resultó terminal en el brazo corto del cromosoma correspondiéndose con la región organizadora nucleolar, y asociándose a heterocromatina rica en CG, como fue reportado en otros miembros de la familia (Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2009, 2011, 2013) y en más del 50% de las Angiospermas estudiadas (Lima de Faria 1976, Roa & Guerra 2012). Lo anteriormente expuesto podría deberse a la acción de la selección positiva que favorece la localización de los sitios 18-5,8-25S en esta región; como resultado de restricciones durante la recombinación homóloga, ya que debido a su organización en tándem estos genes son sometidos tanto a recombinaciones homólogas alélicas y no alélicas. Estos fenómenos juegan un rol fundamental en la homogenización de las repeticiones en tándem tanto dentro de un locus como entre los loci (Hanson *et al.* 1996, Pedrosa-Harand *et al.* 2006, Roa & Guerra 2012). En lo concerniente al gen 5S, a excepción de *R. cereuscula*, en todos los taxones se localizó al menos un locus en la región paracentromérica del brazo largo; coincidiendo con lo reportado en otros miembros de la familia (cf. Las Peñas 2009). Además encontramos taxones con más de un locus 5S, los que se ubicaron en diferentes regiones cromosómicas: intersticial o distal en el brazo largo, y distal en el brazo corto próximo al sitio 18-5,8-25S; estas tres últimas ubicaciones son reportadas por primera vez en Cactaceae, no obstante fueron también encontradas en otros taxones como *Triticum* (Gramineae, Mukai *et al.* 1990), *Phaseolus* (Fabaceae, Pedrosa *et al.* 2003), *Plantago* (Plantaginaceae, Dhar *et al.* 2006), *Iris* (Iridaceae, Martínez *et al.* 2010), *Epimedium* (Berberidaceae, Shen & Whang 2010) y *Prospero* (Hyacinthaceae, Jang *et al.* 2013). La variación de los patrones de distribución del locus 5S en especies de igual nivel de ploidía puede ser atribuida a diferentes mecanismos, tales como rearrreglos estructurales, transposiciones y posterior silenciamiento, amplificación de copias del ADN ribosómico mediante elementos móviles y/o que el número de loci 5S se haya incrementado a partir del genoma ancestral (Hall & Parker 1995, Moscone *et al.* 1999, Cai *et al.* 2006, Datson & Murray 2006, Pedrosa-Harand *et al.* 2006, Lan & Albert 2011).

Estos procesos pueden haber actuado solos o en combinación, y ellos no necesariamente implican cambios en la morfología cromosómica.

En general, los loci 18-5,8-26S y 5S se ubican en grupos de ligamiento diferentes, pero nosotros observamos que en *L. lorentzianum*, *L. warmingianum* y *S. setaceus* ambos genes coinciden en el extremo distal del brazo corto del cromosoma portador de la NOR. La sintenia de los genes ribosomales también se ha descrito para algunos representantes de otros géneros como *Hypochaeris* (Asteraceae, Cerbah *et al.* 1998), *Allium* (Amaryllidaceae, Lee *et al.* 1999), *Clivia* (Amaryllidaceae, Ran *et al.* 2001), *Passiflora* (Passifloraceae, De Melo & Guerra 2003), *Abies* (Pinaceae, Besendorfer *et al.* 2005), *Brassica*, *Eruca*, *Raphanus* (Brassicaceae, Hasterock *et al.* 2006), *Phaseolus* (Fabaceae, Pedrosa-Harand *et al.* 2006), *Artemisia* (Asteraceae, Garcia *et al.* 2007), *Coffea* (Rubiaceae, Hamon *et al.* 2009), *Alstromeria* (Alstromeriaceae, Chacon *et al.* 2012), *Crotalaria* (Fabaceae, Morales *et al.* 2012), considerándose ésta como una característica derivada. La observación citológica de ligamiento en los genes ribosomales puede ser interpretada de diferentes maneras como i) que exista una cercanía física entre ambos locus de genes ribosomales en el mismo brazo cromosómico, ii) que las diferentes unidades de repeticiones del ADN ribosomal, tanto el 5S como el 18-5,8-26S, estén entre mezcladas dentro un mismo locus o iii) que ambos genes estén físicamente ligados en una única unidad de ADN ribosomal. Para seleccionar alguna de estas interpretaciones serían necesarios estudios genómicos de estas secuencias.

Por otra parte en el tetraploide *S. setaceus* se encuentran cinco loci 5S por complemento haploide distribuidos en tres pares cromosómicos, este patrón es descrito por primera vez en Cactaceae; sin embargo la duplicación del ADN ribosomal 5S en el mismo brazo ha sido observada en diversas especies (Taketa *et al.* 1999, Frello & Heslop-Harrison 2000, Shibata & Hizume 2002, Almeida & Pedrosa-Harand 2010, Chacon *et al.* 2012). Además, las regiones subtelo méricas y paracentroméricas son conocidas como blanco de ruptura cromosómica y también están enriquecidas con elementos móviles (Slotkin & Martienssen 2007). Sería necesario evaluar especies hermanas para poder inferir conclusiones acerca de si esta distribución de los genes

ribosomales 5S es anterior a la poliploidización o no; no obstante esto no ha sido encontrado en otros poliploides de la subfamilia Cactoideae (Las Peñas 2009, Las Peñas *et al.* 2013).

V. Modelo de evolución cromosómica en *Lepismium* (Rhipsalideae)

Las relaciones filogenéticas de *Lepismium* y *Rhipsalis*, y entre los miembros de *Lepismium* son semejantes a las reportadas por Korotkova *et al.* (2011), tomando dichas relaciones y el mapeo de caracteres se planteó un modelo hipotético de cambio cromosómico. El número cromosómico ancestral inferido para *Lepismium* es $x=11$, y durante su diversificación no se produjeron variaciones cromosómicas numéricas como sí han ocurrido en algunas especies de su género hermano *Rhipsalis* y otras cactáceas epífitas no relacionadas como *S. setaceus* y *S. megalanthus* (Beard 1937, Spencer 1955, Lichtenzveig *et al.* 2000). El cariotipo hipotético ancestral semejava morfológicamente al complemento de *L. lumbricoides* y los miembros de *Rhipsalis* incluidos; estos genomas poseen un único locus 5S ubicado en la región paracentromérica del brazo largo del segundo par cromosómico y el locus 18-5,8-26S en el cromosoma del mayor tamaño portador de la NORs.

La duplicación del gen ribosomal 5S ha acompañado la diversificación de los linajes de epífitos y particularmente en *Lepismium*; basados en las reconstrucción de caracteres cromosómicos ancestrales, nosotros proponemos que ocurrieron dos eventos de duplicación independientes. El ancestro hipotético del clado que contiene a *L. lorentzianum* y *L. warmingianum* duplicó su locus 5S hacia el extremo distal del brazo corto del primer par cromosómico; antes de la especiación de dichos taxones. Mientras que la otra duplicación ocurrió hacia el octavo par cromosómico y fue posterior a la divergencia de *L. houlettianum* del resto de clado. Por otra parte, el locus 5S se translocó dos veces en *L. aculeatum* y *L. cruciforme*, independientemente entre sí (ver Fig. 15, 20 y 21). Esta movilidad en el locus 5S parece ser característica de *Lepismium* a diferencia de *Rhipsalis* en donde este gen se mantiene conservado tanto en el número como en su distribución.

VI. Cactáceas epífitas y sus cariotipos

Los mecanismos involucrados en la transición del hábitat terrestre a epífitos son desconocidos. De acuerdo a Wallace & Gibson (2002), el epifitismo surgió a partir de cactus columnares y fue acompañado de modificaciones estructurales tales como el desarrollo de raíces caulinarias aéreas, el ensanchamiento de los tallos en forma de hojas, la reducción del tamaño de las costillas, la pérdida de la formación de madera y la reducción de las espinas. Todas estas características son compartidas por los miembros epífitos de Cactoideae; sin embargo estas son convergencias morfológicas a la vida epífita y este hábito surgió independientemente al menos cuatro veces en la subfamilia (Korotkova *et al.* 2010, 2011, Calvente *et al.* 2011 a, b).

Los cariotipos proporcionan una visión fenotípica del genotipo, por ello no es sorprendente que el análisis cromosómico comparativo contribuya a la comprensión de las relaciones filogenéticas y sistemáticas entre las especies, así como al conocimiento de los posibles mecanismos subyacentes de especiación (Dogbygnny *et al.* 2004). La apropiada interpretación de las características cariotípicas, basada en filogenias de secuencias de ADN permite comprender la divergencia genética entre especies (Guerra 2012). Entre los representante de los clados epífitos evaluados, se puede concluir que las variaciones numéricas no han acompañado la adquisición del epifitismo, sino más bien los eventos de poliploidía son esporádicos y relacionados a eventuales hibridaciones entre especies relacionadas (*S. setaceus*) o con la expansión en el rango de distribución (*R. baccifera*). Por otra parte tanto *Pfeiffera ianthothele*, como *P. monacantha* presentan cariotipos semejantes entre sí y se diferencian de los miembros de Rhipsalideae, no obstante aun es necesario evaluar los miembros restantes del clado hermano (*P. boliviana*, Korotkova *et al.* 2010) para interpretar sus características cromosómicas, de igual manera en Hylocereeineae (*E. phyllanthus* y *S. setaceus*) en donde los estudios cariotípicos son escasos. Finalmente, la similitud estructural entre los cariotipos de *Lepismium* y *Rhipsalis*, sugiere que los procesos de diversificación en este grupo fueron rápidos y principalmente crípticos a nivel de cromosómico. Esto también se evidencia en el alto grado de homoplasia morfológica y la carencia de sinapomorfías entre ambos géneros (Calvente *et al.* 2011 a, b). Sin

embargo la diversificación de las especies de *Lepismium* parece haber involucrado la duplicación de segmentos cromosómicos sin modificar su estructura cariotípica.

El origen reciente de Cactaceae y su rápida diversificación (cf. Arakaki *et al.* 2011) podría explicar el éstasis cromosómico entre sus miembros (Las Peñas 2009); con todo en ciertos grupos como *Pyrrhocactus* (Las Peñas *et al.* 2008) y *Lepismium* pueden evidenciarse modificaciones cromosómicas adquiridas durante y/o posteriores a los procesos especiogénicos, posiblemente acumuladas en el transcurso de su divergencia y adaptación.

CONCLUSIONES

- Se examinaron 14 taxones de cactus epífitos de Argentina, representando tres linajes independientes dos taxones de Hylocereeinae, diez taxones Rhipsalideae y dos de Pfeiffera.
 - A excepción de *Selenicereus setaceus* ($2n = 44$), las especies restantes resultaron diploides $2n = 22$. Confirmando el número básico de Cactaceae $x = 11$.
 - En todas las especies, los cromosomas son morfométricamente homogéneos, tanto en forma como en tamaño; semejantes al resto de Cactaceae.
 - Se detectó únicamente heterocromatina rica en CG. En todas las especies la heterocromatina se localizó asociada a la constricción secundaria. Además, *Lepismium lorentzianum* presentó un par de bandas heterocromáticas no asociadas a la constricción secundaria, en el brazo largo del segundo par cromosómico.
 - El gen ribosomal 18-5,8-26S se localizó en todas las especies estudiadas en el satélite cromosómico asociado al brazo corto del par cromosómico más grande del complemento. El número de loci 18-5,8-26S se corresponde al nivel de ploidía, dos loci en los diploides y cuatro en el tetraploide.
 - El número de loci del gen ribosomal 5S es variable en los taxones diploides. Las especies de *Rhipsalis*, *L. aculeatum*, *L. cruciforme*, *L. lumbricoides* y *Epiphyllum phyllanthus* presentan solo un par de sitios, mientras que el resto de las especies de *Lepismium*, *P. ianthothele* y *P. monacantha* dos pares.
 - Los loci 5S se ubican generalmente en la región paracentromérica del brazo largo del segundo, tercer u octavo par cromosómico. Además en *L. lorentzianum* y *L. warmingianum*, uno de sus sitios 5S es sinténico al gen ribosomal 18-5,8-26S.
 - En el tetraploide *S. setaceus* se encuentran 5 loci por genoma haploide, un loci sinténico con uno de los loci 18-5,8-26S, dos sitios en la región

paracentromérica del brazo largo del tercer y cuarto par cromosómico y dos loci en el mismo brazo que los anteriores pero en la región distal.

- Los datos cariotípicos permitieron proponer un modelo de evolución cromosómica para *Lepismium* como grupo derivado de Rhipsalideae.
- Las especies de *Pfeiffera* se diferencian cariotípicamente de los otros linajes de epífitos.
- El par cromosómico de mayor tamaño portador del gen 18-5,8-26S es homeólogo entre las especies estudiadas.
- El patrón de distribución del gen 5S resultó útil para diferenciar entre los taxones estudiados.
- Estas características cariotípicas homogéneas, se comportan de manera homoplástica en los miembros de los tres linajes estudiados, sugiriendo una diversificación reciente con modificaciones genómicas crípticas, o bien que aun existen fuerzas evolutivas involucradas en la homogeneización de estos géneros, tales como hibridación-introgresión.

Anexo I: Datos cromosómicos de los taxones estudiados

Se analizaron al menos 10 placas metafásicas, provenientes de 5 individuos entre 2-o 7 localidades por especie, dependiendo de la amplitud de su distribución.

Abreviaturas: Valores medios de: **s**, brazo corto; **l**, brazo largo; **c**, largo total; **r**, índice braquial; **de**, desvío estándar,

Epiphyllum phyllanthus (L.) Haw.

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,77 ± 0,01	2,16 ± 0,10	3,93 ± 0,14	1,22
2	1,63 ± 0,05	1,97 ± 0,12	3,59 ± 0,07	1,21
3	1,62 ± 0,08	1,89 ± 0,05	3,51 ± 0,03	1,16
4	1,53 ± 0,08	1,87 ± 0,05	3,40 ± 0,03	1,23
5	1,50 ± 0,01	1,75 ± 0,13	3,25 ± 0,13	1,17
6	1,35 ± 0,11	1,74 ± 0,07	3,09 ± 0,03	1,29
7	1,30 ± 0,10	1,68 ± 0,07	2,98 ± 0,01	1,30
8	1,25 ± 0,02	1,59 ± 0,03	2,84 ± 0,05	1,27
9	1,23 ± 0,01	1,51 ± 0,04	2,74 ± 0,03	1,23
10	1,26 ± 0,02	1,33 ± 0,09	2,59 ± 0,11	1,05
11	0,93 ± 0,03	1,16 ± 0,10	2,09 ± 0,13	1,25

Lepismium aculeatum (F.A.C. Weber) Barthlott & Taylor

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,22 ± 0,01	1,46 ± 0,05	2,68 ± 0,06	1,19
2	1,18 ± 0,08	1,40 ± 0,01	2,58 ± 0,07	1,19
3	1,11 ± 0,02	1,29 ± 0,01	2,41 ± 0,04	1,16
4	1,07 ± 0,06	1,24 ± 0,01	2,31 ± 0,04	1,16
5	0,98 ± 0,05	1,19 ± 0,10	2,18 ± 0,04	1,21
6	0,94 ± 0,04	1,14 ± 0,02	2,08 ± 0,02	1,22
7	0,92 ± 0,01	1,09 ± 0,02	2,02 ± 0,01	1,19
8	0,91 ± 0,03	1,05 ± 0,01	1,96 ± 0,04	1,16
9	0,83 ± 0,05	1,02 ± 0,02	1,86 ± 0,03	1,22
10	0,79 ± 0,06	0,97 ± 0,09	1,77 ± 0,02	1,23
11	0,71 ± 0,01	0,90 ± 0,09	1,62 ± 0,11	1,27

L. cruciforme (Vell.) Miq.

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,06 ± 0,01	1,35 ± 0,10	2,41 ± 0,10	1,27
2	1,03 ± 0,02	1,19 ± 0,07	2,22 ± 0,06	1,15
3	0,94 ± 0,12	1,17 ± 0,09	2,10 ± 0,03	1,25
4	0,90 ± 0,00	1,10 ± 0,02	2,00 ± 0,02	1,23
5	0,89 ± 0,06	1,07 ± 0,05	1,96 ± 0,01	1,20
6	0,84 ± 0,04	1,07 ± 0,06	1,91 ± 0,02	1,27
7	0,86 ± 0,03	0,98 ± 0,01	1,84 ± 0,03	1,13
8	0,81 ± 0,03	0,97 ± 0,01	1,78 ± 0,04	1,20
9	0,76 ± 0,02	0,94 ± 0,05	1,70 ± 0,03	1,24
10	0,71 ± 0,01	0,87 ± 0,03	1,58 ± 0,03	1,22
11	0,64 ± 0,08	0,74 ± 0,03	1,38 ± 0,11	1,14

L. houlettianum (Lem.) Barthlott

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,17 ± 0,10	1,32 ± 0,02	2,49 ± 0,08	1,13
2	1,03 ± 0,03	1,32 ± 0,01	2,35 ± 0,01	1,28
3	1,05 ± 0,02	1,19 ± 0,05	2,23 ± 0,03	1,13
4	0,99 ± 0,01	1,17 ± 0,02	2,16 ± 0,01	1,18
5	0,94 ± 0,07	1,18 ± 0,05	2,12 ± 0,02	1,26
6	0,92 ± 0,03	1,15 ± 0,01	2,06 ± 0,02	1,25
7	0,88 ± 0,07	1,10 ± 0,04	1,97 ± 0,02	1,25
8	0,88 ± 0,02	1,04 ± 0,01	1,92 ± 0,02	1,19
9	0,79 ± 0,03	1,03 ± 0,01	1,81 ± 0,03	1,30
10	0,79 ± 0,02	0,93 ± 0,03	1,72 ± 0,05	1,17
11	0,71 ± 0,07	0,89 ± 0,01	1,59 ± 0,06	1,26

L. lorentzianum (Griseb.) Barthlott

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	0,80 ± 0,06	1,00 ± 0,01	1,80 ± 0,06	1,25
2	0,73 ± 0,01	0,87 ± 0,03	1,60 ± 0,03	1,19
3	0,68 ± 0,04	0,85 ± 0,07	1,53 ± 0,03	1,25
4	0,67 ± 0,02	0,78 ± 0,04	1,46 ± 0,02	1,16
5	0,64 ± 0,03	0,77 ± 0,02	1,41 ± 0,01	1,22
6	0,64 ± 0,01	0,74 ± 0,01	1,38 ± 0,01	1,16
7	0,61 ± 0,02	0,73 ± 0,02	1,34 ± 0,01	1,19
8	0,60 ± 0,01	0,70 ± 0,01	1,31 ± 0,01	1,17
9	0,58 ± 0,04	0,70 ± 0,02	1,28 ± 0,01	1,20
10	0,53 ± 0,04	0,69 ± 0,01	1,22 ± 0,04	1,29
11	0,48 ± 0,02	0,66 ± 0,01	1,15 ± 0,03	1,38

L. lumbricoides (Lem.) Barthlott

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,22 ± 0,08	1,37 ± 0,17	2,59 ± 0,09	1,12
2	0,85 ± 0,08	1,39 ± 0,10	2,24 ± 0,17	1,63
3	1,08 ± 0,05	1,36 ± 0,10	2,44 ± 0,15	1,27
4	0,99 ± 0,02	1,21 ± 0,01	2,21 ± 0,02	1,22
5	1,00 ± 0,01	1,17 ± 0,01	2,17 ± 0,02	1,16
6	0,94 ± 0,01	1,14 ± 0,03	2,08 ± 0,03	1,22
7	0,94 ± 0,02	1,07 ± 0,04	2,02 ± 0,02	1,13
8	0,91 ± 0,01	1,05 ± 0,02	1,95 ± 0,02	1,15
9	0,85 ± 0,05	1,02 ± 0,09	1,87 ± 0,04	1,20
10	0,81 ± 0,07	0,96 ± 0,12	1,77 ± 0,05	1,18
11	0,73 ± 0,07	0,85 ± 0,01	1,58 ± 0,06	1,17

L. warmingianum (K.Schum.) Barthlott

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,15 ± 0,02	1,24 ± 0,04	2,38 ± 0,06	1,08
2	0,98 ± 0,07	1,17 ± 0,01	2,16 ± 0,08	1,19
3	0,97 ± 0,06	1,07 ± 0,01	2,03 ± 0,06	1,10
4	0,84 ± 0,10	1,09 ± 0,09	1,93 ± 0,01	1,29
5	0,87 ± 0,01	1,02 ± 0,02	1,89 ± 0,01	1,17
6	0,82 ± 0,06	1,03 ± 0,05	1,85 ± 0,01	1,25
7	0,81 ± 0,01	0,96 ± 0,04	1,78 ± 0,03	1,18
8	0,78 ± 0,04	0,93 ± 0,07	1,71 ± 0,03	1,19
9	0,75 ± 0,01	0,83 ± 0,05	1,58 ± 0,06	1,10
10	0,69 ± 0,01	0,79 ± 0,05	1,48 ± 0,06	1,16
11	0,65 ± 0,03	0,72 ± 0,05	1,37 ± 0,08	1,12

Rhipsalis baccifera (J.S.Muell.) Stearn

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,42 ± 0,07	1,74 ± 0,05	3,16 ± 0,03	1,22
2	1,26 ± 0,01	1,59 ± 0,03	2,86 ± 0,04	1,26
3	1,28 ± 0,03	1,45 ± 0,02	2,73 ± 0,02	1,12
4	1,24 ± 0,01	1,40 ± 0,03	2,65 ± 0,03	1,13
5	1,16 ± 0,04	1,42 ± 0,03	2,58 ± 0,02	1,23
6	1,13 ± 0,07	1,37 ± 0,03	2,50 ± 0,04	1,21
7	1,03 ± 0,01	1,32 ± 0,06	2,36 ± 0,05	1,27
8	1,01 ± 0,01	1,19 ± 0,08	2,21 ± 0,06	1,17
9	0,98 ± 0,02	1,13 ± 0,05	2,11 ± 0,03	1,15
10	0,82 ± 0,01	1,13 ± 0,05	1,96 ± 0,04	1,36
11	0,77 ± 0,01	0,88 ± 0,07	1,65 ± 0,01	1,14

R. cereuscula Haw. ex Phil.

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,17 ± 0,05	1,39 ± 0,12	2,56 ± 0,17	1,18
2	1,08 ± 0,03	1,29 ± 0,05	2,37 ± 0,08	1,19
3	1,05 ± 0,02	1,19 ± 0,01	2,25 ± 0,02	1,13
4	0,97 ± 0,04	1,18 ± 0,01	2,15 ± 0,04	1,21
5	0,95 ± 0,01	1,10 ± 0,03	2,05 ± 0,03	1,16
6	0,88 ± 0,04	1,07 ± 0,07	1,96 ± 0,03	1,21
7	0,87 ± 0,01	0,99 ± 0,02	1,86 ± 0,04	1,13
8	0,80 ± 0,01	1,00 ± 0,03	1,80 ± 0,02	1,26
9	0,81 ± 0,01	0,92 ± 0,01	1,74 ± 0,02	1,13
10	0,76 ± 0,03	0,91 ± 0,01	1,67 ± 0,04	1,19
11	0,67 ± 0,05	0,80 ± 0,03	1,47 ± 0,07	1,21

R. floccosa subsp. *hohenauensis* (F.Ritter) Barthlott & Taylor

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	0,75 ± 0,01	0,87 ± 0,05	1,62 ± 0,05	1,15
2	0,67 ± 0,02	0,78 ± 0,04	1,46 ± 0,02	1,16
3	0,63 ± 0,05	0,76 ± 0,01	1,39 ± 0,04	1,20
4	0,61 ± 0,01	0,72 ± 0,01	1,33 ± 0,02	1,18
5	0,62 ± 0,01	0,67 ± 0,02	1,28 ± 0,02	1,08
6	0,57 ± 0,01	0,66 ± 0,04	1,22 ± 0,03	1,16
7	0,56 ± 0,02	0,62 ± 0,02	1,18 ± 0,01	1,12
8	0,51 ± 0,02	0,64 ± 0,01	1,15 ± 0,01	1,27
9	0,53 ± 0,01	0,58 ± 0,01	1,11 ± 0,01	1,10
10	0,47 ± 0,01	0,56 ± 0,05	1,03 ± 0,07	1,19
11	0,42 ± 0,01	0,48 ± 0,03	0,89 ± 0,04	1,14

R. floccosa subsp. *tucumanensis* (F.A.C.Weber) Barthlott & Taylor

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	0,75 ± 0,02	0,89 ± 0,05	1,64 ± 0,07	1,18
2	0,69 ± 0,02	0,79 ± 0,07	1,48 ± 0,05	1,14
3	0,64 ± 0,04	0,76 ± 0,01	1,40 ± 0,03	1,20
4	0,59 ± 0,01	0,74 ± 0,04	1,33 ± 0,02	1,27
5	0,59 ± 0,01	0,71 ± 0,01	1,29 ± 0,01	1,20
6	0,58 ± 0,04	0,69 ± 0,02	1,27 ± 0,02	1,17
7	0,56 ± 0,02	0,67 ± 0,03	1,23 ± 0,01	1,21
8	0,56 ± 0,01	0,63 ± 0,02	1,19 ± 0,01	1,12
9	0,52 ± 0,02	0,63 ± 0,01	1,15 ± 0,02	1,22
10	0,49 ± 0,01	0,60 ± 0,02	1,09 ± 0,02	1,21
11	0,48 ± 0,01	0,54 ± 0,04	1,02 ± 0,05	1,13

Pfeiffera ianthothele (Monv.) F.A.C. Weber

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	1,03 ± 0,01	1,21 ± 0,07	2,25 ± 0,06	1,18
2	1,00 ± 0,01	1,12 ± 0,07	2,12 ± 0,05	1,12
3	0,91 ± 0,01	1,08 ± 0,03	1,99 ± 0,04	1,18
4	0,89 ± 0,02	1,02 ± 0,01	1,91 ± 0,02	1,14
5	0,84 ± 0,03	1,01 ± 0,01	1,85 ± 0,03	1,20
6	0,82 ± 0,04	0,96 ± 0,02	1,78 ± 0,02	1,18
7	0,74 ± 0,05	0,95 ± 0,03	1,69 ± 0,01	1,28
8	0,75 ± 0,02	0,90 ± 0,01	1,65 ± 0,02	1,20
9	0,70 ± 0,04	0,84 ± 0,10	1,54 ± 0,06	1,19
10	0,64 ± 0,01	0,78 ± 0,04	1,42 ± 0,04	1,22
11	0,58 ± 0,01	0,71 ± 0,05	1,29 ± 0,06	1,22

P. monacantha (Griseb.) P.V. Heath

par	s ± de	l ± de	c ± de	r
1	0,91 ± 0,01	1,02 ± 0,06	1,94 ± 0,06	1,12
2	0,86 ± 0,01	1,04 ± 0,06	1,90 ± 0,07	1,21
3	0,85 ± 0,04	0,93 ± 0,01	1,79 ± 0,04	1,10
4	0,78 ± 0,03	0,96 ± 0,02	1,74 ± 0,01	1,24
5	0,75 ± 0,06	0,92 ± 0,06	1,67 ± 0,01	1,23
6	0,76 ± 0,01	0,85 ± 0,01	1,62 ± 0,02	1,12
7	0,74 ± 0,03	0,83 ± 0,02	1,57 ± 0,01	1,12
8	0,70 ± 0,02	0,83 ± 0,03	1,53 ± 0,01	1,19
9	0,67 ± 0,01	0,77 ± 0,03	1,44 ± 0,03	1,16
10	0,59 ± 0,01	0,77 ± 0,05	1,36 ± 0,04	1,30
11	0,50 ± 0,04	0,65 ± 0,10	1,14 ± 0,14	1,31

Anexo II: Matriz empleada para el ANAVA

Abreviaturas: c_1 , largo total el cromosoma n°1; c_2 , largo total del cromosoma n°2; lt , largo total del complemento haploide; C , largo cromosómico promedio; r , índice braquial promedio; $\%ht$, porcentaje de heterocromatina por complemento haploide. Siglas de los taxones: **acu:** *L. aculeatum*; **bac:** *R. baccifera*; **cer:** *R. cereuscula*; **cru:** *L. cruciforme*; **hoe:** *R. floccosa* var. *hohenauensis*; **hou:** *L. houletianum*; **lor:** *L. lorentzianum*; **lum:** *L. lumbricoides*; **mon:** *P. monacantha*; **ian:** *P. ianthothele*; **tuc:** *L. tucumanensis*; **war:** *L. warmingianum*.

taxon	c_1	c_2	lt	C	r	$\%ht$
acu	3,83	3,79	30,08	2,73	1,19	2,88
acu	2,89	2,87	25,16	2,29	1,32	1,55
acu	2,81	2,80	21,79	1,98	1,16	1,32
acu	2,39	2,38	19,02	1,73	1,19	2,23
acu	1,81	1,66	16,03	1,46	1,18	1,60
bac	4,30	3,92	36,44	3,31	1,15	1,10
bac	2,44	1,89	16,17	1,47	1,36	2,24
bac	2,70	2,60	21,82	1,98	1,16	2,71
bac	3,24	3,18	22,99	2,09	1,23	2,25
bac	2,70	1,90	16,30	1,50	1,40	1,15
cer	2,12	2,05	18,44	1,68	1,16	2,12
cer	3,20	2,29	23,11	2,10	1,14	1,86
cer	2,46	2,46	22,25	2,02	1,13	1,90
cer	2,72	2,71	22,36	2,03	1,19	1,66
cer	2,95	2,68	23,76	2,16	1,21	1,71
cru	2,62	2,33	21,43	1,99	1,17	0,85
cru	2,67	2,66	23,22	2,11	1,17	1,26
cru	1,72	1,71	14,96	1,36	1,26	0,97
cru	3,76	3,50	30,73	2,79	1,28	0,80
cru	1,66	1,50	14,09	1,28	1,26	1,20
hoe	1,67	1,55	14,89	1,35	1,17	4,02
hoe	1,21	1,21	11,43	1,04	1,18	2,88
hoe	1,27	1,16	10,60	0,96	1,13	2,28
hoe	2,44	2,09	17,73	1,61	1,18	1,94
hoe	1,30	1,20	11,50	1,10	1,20	1,99
hou	2,56	2,46	22,22	2,02	1,32	1,54
hou	2,07	1,91	17,50	1,59	1,24	1,91
hou	3,01	2,95	27,57	2,51	1,16	1,53
hou	2,10	2,00	17,60	1,60	1,30	1,79
hou	2,90	2,80	27,40	2,40	1,12	1,53
lor	1,92	1,86	17,37	1,58	1,34	1,43
lor	1,81	1,71	14,67	1,33	1,16	0,82
lor	1,68	1,67	14,37	1,31	1,25	0,85
lor	1,96	1,78	15,46	1,40	1,17	0,81
lor	2,97	2,96	23,50	2,14	1,37	1,43

lum	2,28	2,19	20,64	1,88	1,33	2,00
lum	2,04	1,85	27,36	2,49	1,27	2,23
lum	3,30	3,20	28,70	2,61	1,23	1,84
lum	1,90	1,90	16,58	1,51	1,14	1,59
lum	2,16	2,08	17,53	1,59	1,23	1,84
mon	2,04	1,97	17,47	1,59	1,23	2,33
mon	2,03	2,00	18,47	1,68	1,17	1,94
mon	1,64	1,64	15,39	1,40	1,24	2,02
mon	2,26	2,19	19,66	1,79	1,21	2,25
mon	2,01	1,59	17,46	1,59	1,17	1,83
ian	2,02	1,97	18,20	1,65	1,26	2,81
ian	2,20	2,10	17,50	1,59	1,14	2,40
ian	2,65	2,50	22,44	2,04	1,13	2,02
ian	2,56	2,54	23,48	2,13	1,26	2,80
ian	2,02	1,91	15,78	1,43	1,23	2,39
tuc	2,34	2,10	19,81	1,80	1,26	1,78
tuc	1,61	1,53	13,81	1,26	1,15	2,09
tuc	1,47	1,36	12,31	1,12	1,14	2,02
tuc	1,50	1,50	12,92	1,17	1,20	1,40
tuc	1,55	1,47	11,67	1,06	1,20	2,01
war	2,55	2,47	21,01	1,91	1,17	1,57
war	2,30	2,21	19,31	1,76	1,19	1,89
war	1,80	1,79	13,83	1,26	1,18	2,25
war	2,28	2,26	21,06	1,91	1,21	1,54
war	2,16	1,96	18,06	1,64	1,15	1,55

Anexo III: Matriz empleada para el análisis de conglomerados

Abreviaturas: **n**, número cromosómico haploide; **C**, largo cromosómico promedio; **Lt**, largo total del genoma básico; **A₁**, índice de asimetría intracromosómico; **A₂**, índice de asimetría intercromosómico; **%ht**, ; **45S**, número de señales de hibridación para el gen ribosomal 18-5,8-26S; **5S**, número de señales de hibridación para el gen ribosomal; **sin**, sintenia de los genes ribosomales; **N°2**, cromosoma n° 2 con locus 5S; **N°3**, cromosoma n° 3 con locus 5S; **N°8**, cromosoma n° 8 con locus 5S. Siglas de los taxones: **epi**: *E. phyllanthus*, **sele**: *S. setaseus*, **acu**: *L. aculeatum*; **bac**: *R. baccifera*; **cer**: *R. cereuscula*; **cru**: *L. cruciforme*; **hoe**: *R. floccosa* var. *hohenauensis*; **hou**: *L. houlettianum*; **lor**: *L. lorentzianum*; **lum**: *L. lumbricoides*; **mon**: *P. monacantha*; **ian**: *P. ianthothele*; **tuc**: *L. tucumanensis*; **war**: *L. warmingianum*.

Codificación de caracteres discretos

sin: 0= ausencia; 1= presencia

N°2: 0= ausencia; 1= presencia

N°3: 0= ausencia; 1= presencia

N°8: 0= ausencia; 1= presencia

Matriz caracteres cuantitativos y discretos

taxones	n	C	Lt	A ₁	A ₂	%ht	45S	5S	sin	N°2	N°3	N°8
epi	11	3,09	34,00	0,17	0,17	1,97	1	1	0	0	1	0
sele	22	3,07	33,67	0,10	0,15	2,02	2	5	1	0	1	0
ian	11	1,77	19,48	0,16	0,16	2,40	1	2	0	1	1	0
mon	11	1,61	17,69	0,16	0,15	2,33	1	2	0	1	1	0
acu	11	2,13	23,48	0,17	0,15	1,99	1	1	0	0	0	1
cru	11	1,90	20,90	0,17	0,15	1,01	1	1	0	0	0	1
hou	11	2,04	22,43	0,18	0,13	1,65	1	2	0	1	0	1
lor	11	1,40	15,45	0,18	0,14	1,06	1	2	1	1	0	0
lum	11	2,08	22,92	0,17	0,14	1,91	1	1	0	1	0	0
war	11	1,83	20,16	0,14	0,16	1,29	1	2	1	1	0	0
bac	11	2,43	26,76	0,17	0,18	1,39	1	1	0	1	0	0
cer	11	1,99	21,86	0,15	0,16	1,35	1	1	0	1	0	0
hoe	22	1,24	13,66	0,13	0,16	2,01	1	1	0	1	0	0
tuc	22	1,28	14,10	0,16	0,14	1,35	1	1	0	1	0	0

Anexo IV: Alineamiento de secuencias y análisis filogenético

A partir de la matriz de marcadores cloroplastídicos (TreeBASE ID 11406) de Korotkova *et al.* (2011) se seleccionaron 38 terminales pertenecientes a los taxones en estudios, en todos los casos se incluyeron más de una terminal por taxón, a excepción de *P. ianthothele*, *P. monacantha*, *E. phyllanthus* y *Echinopsis aurea*. El alineamiento se realizó en MEGA 5 (Tamura *et al.* 1993-2011) utilizando el algoritmo de MUSCLE (Edgar 2004) y posteriormente se procedió a un alineamiento manual. Obteniéndose una matriz de 40 terminales y 6191 pares de bases. El análisis filogenético se efectuó mediante dos métodos Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana.

El análisis de Máxima Parsimonia fue llevado a cabo en TNT ver.1.1 (Goloboff *et al.* 2008). Se evaluó la señal filogenética de cada marcador independientemente, resultando las topologías congruentes entre sí. Todas las regiones fueron concatenadas en una única matriz y todos los caracteres fueron tratados como no ordenados, independientes y de igual peso. Los *gaps* fueron considerados como dato perdido. La búsqueda heurística fue realizada con la opción *ratchet* (Nixon 1999) con los parámetros por defecto implementados por el programa. Las medidas de soporte de los clados se estimaron usando 1000 réplicas de *bootstrap* no paramétrico.

El análisis bayesiano fue realizado en MrBayes v.3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). La matriz de datos fue evaluada con dos estrategias: una usando siete particiones basadas en cada región de ADN y otra tomando todos los datos en conjunto. El modelo de sustitución nucleotídica para ambas estrategias fue determinado con el jModelTest 0.1.1 (Posada 2008) usando el criterio de información de Akaike (AIC). Se seleccionó el modelo de sustitución nucleotídica de tiempo reversible (GTR) con una tasa variable entre sitios descrita por un distribución gamma (GTR + γ). La evaluación de los análisis de la matriz particionada y no particionada fueron realizados en Tracer v.1.5 (Rambaut & Drummond 2009), usando factor Bayes (BF) para la comparación ($2 \ln BF \geq 10$). Se realizaron dos búsquedas independientes con 4 cadenas Markov-Monte Carlo asociadas al algoritmo de Metrópolis (MCMCMC), de 10 millones de generaciones cada una y muestreando cada 10 mil generaciones. El 25% de los árboles de cada corrida fueron eliminados y posteriormente los árboles restantes se resumieron en un consenso de mayoría (50%), el soporte de los nodos se expresó como probabilidades posteriores.

Datos de las secuencias utilizadas para la construcción de la filogenia

Datos de las secuencias seleccionadas a partir de Korotkova et al. (2011), las secuencias correspondientes a *Echinopsis aurea*, *P. ianthothele* y *P. monacantha* corresponden a Korotkova et al (2010), mientras que las de *E. phyllanthus* fueron descargadas de *Gen Bank*.

Taxon, número de cultivo, localidad de colecta, n° de especimen, código de secuencia de ADN, n° de acceso en *Gene Bank/ EMBL* según corresponda.

Grupo externo

Echinopsis aurea Britton & Rose, BG Bonn 24068, sin dato de localidad, (s.n.), CA104, trnK/matK FN669743, rpl16 FN673649, psbA-trnH FN669005, trnQ-rps16 FN995670, rbcl FR853367.

Epiphyllum phyllanthus Haw., trnK/matK HM041690, rpl16 -, psbA-trnH HQ727769, trnQ-rps16 HQ727848, rbcl —.

Pfeiffera ianthothele (Monv.) F. A. C. Weber, BG Bonn 12965, Bolivia, Dpto. Santa Cruz, C. & P. Ibisch 93.884, CA084, trnK/matK FR716764, rpl16 FR716775, psbA-trnH Fr716785, trnQ-rps16 FR716795, rbcl —.

P. monacantha (Griseb.) P.V.Heath, BG Bonn 12971, Bolivia, Dep. Tarija, Prov.Arce, C. & P. Ibisch 93.1228 (FR), CA090, trnK / matK FN669732, rpl16 FN673638, psbA-trnH FN995430, trnQ-rps16 FN677886, rbcl —.

Grupo interno

Lepismium cruciforme (Vell.) Miq., BG Bonn 5760, Brazil, Páрана, descendiendo de Itatiaia a Ponta Crossa, W. Barthlott 90-27 (B), CA010, trnK/matK FN669662, rpl16 FN673565, psbA-trnH FN669012, trnQ-rps16 FN677815, rbcl FR853290; BG Bonn 14531, sin dato de localidad, (B), CA068, trnK/matK FN669717, rpl16 FN673623, psbA-trnH FN669014, trnQ-rps16 FN677872, rbcl FR853347; BG Bonn 2239, Brazil, W. Rauh 70774 (B), CA069, trnK/ matK FN669718, rpl16 FN673624, psbA-trnH FN669013, trnQ-rps16 FN677873, rbcl FR853348.

Lepismium houlettianum (Lem.) Barthlott, BG Bonn 2176, Brazil, Rio Grande do Sul, entre Candelaria y Agudo, Horst & Uebelmann HU1003 (B), CA082, trnK/matK FN669726, rpl16 FN673632, psbA-trnH FN669006, trnQ-rps16 FN677880, rbcl FR853356; BG Bonn 4557, Brazil, Friedrics.n. (B), CA083, trnK/matK FN669727, rpl16 FN673633, psbA-trnHFN669007, trnQ-rps16 FN677882, rbcl FR853357; BG Bonn 26962, without locality data, (B), CA130, trnK/matK FN669768, rpl16 FN673674, psbA-trnH FN669157, trnQ-rps16 FN677922, rbcl FR853387.

Lepismium houlettianum f. *regnellii* (G.Lindb.) Barthlott & N.P.Taylor, BG Bonn 5748, Brazil, Rio Grande do Sul, cerca de Torres, W. Barthlott 90-61 (B), CA081, trnK/matK FN669725, rpl16 FN673631, psbA-trnHFN669008, trnQ-rps16 FN677879, rbcl FR853355.

Lepismium lorentzianum (Griseb.) Barthlott, BG Bonn 21783, Argentina, Jujuy, camino de Sta. Clara a El Fuerte, B. O. Schlumpberger BOS 157 (B), CA080, trnK/matK FN995676, rpl16 FN995673, psbA-trnH FN669016, trnQ-rps16 FN995669, rbcl FR853354; BG Bonn 12972, Bolivia, Dep. Tarija, Prov. Arce, C. & P. Ibisch 93.1230 (BOLV, LPB, FR), CA087, trnK/matK FN669729, rpl16 FN673635, psbA-trnH FN669017, trnQ-rps16 FN677883, rbcl FR853358; BG Bonn 12976, Bolivia, Dep. Tarija, Prov. O'Connor, C. & P. Ibisch 93.1261 (FR), CA088, trnK/matK FN669730, rpl16 FN673636, psbA-trnH FN669015, trnQ-rps16 FN677884, rbcl FR853359.

Lepismium lumbricoides (Lem.) Barthlott, BG Bonn 12181, Brazil, Paraná, entre Palmeira y Matra, Horst & Uebelmann HU985 (B), CA070, trnK/matK FN669719, rpl16 FN673625, psbA-trnH FN669011, trnQ-rps16 FN677874, rbcL FR853349; BG Bonn 5755, Brazil, Rio Grande do Sul, cerca Arroio da Sêca, W. Barthlott 90-52 (B), CA071, trnK/matK FN669720, rpl16 FN673626, psbA-trnH FN669009, trnQ-rps16 FN677875, rbcL FR853350; BG Bonn 12977, Bolivia, Dep. Tarija, Prov. O' Connor, C. & P. Ibsch 93.1274 (B), CA072, trnK/matK FN669721, rpl16 FN673627, psbA-trnH FN669010, trnQ-rps16 FN677876, rbcL FR853351; BG Bonn 8571, Brazil, Rio Grande do Sul, São Francisco de Assis — Santa Maria, Horst & Uebelmann HU1100 (B), CA128, trnK/matK FN669766, rpl16 FN673672, psbA-trnH FN669160, trnQ-rps16 FN677920, rbcL FR853385.

Lepismium lumbricoides f. *aculeatum* (F.A.C. Weber) Barthlott & N. P. Taylor, BG Bonn 14123, Brazil, (B), CA129, trnK/matK FN669767, rpl16 FN673673, psbA-trnH FN669156, trnQ-rps16 FN677921, rbcL FR853386.

Lepismium warmingianum (K.Schum.) Barthlott, BG Berlin-Dahlem BR0-B-0611105, Brazil, Rio Grande do Sul, cerca de Arroio da Sêca, W. Barthlott 90-51(B), CA074, trnK/matK FN669723, rpl16 FN673629, psbA-trnH FN669026, trnQ-rps16 FN677878, rbcL FR853352; BG Bonn 4837, Brazil, Rio Grande do Sul, selva del Morro Santana, S. Porembski 12.1990 (B), CA075, trnK/matK FN669724, rpl16 FN673630, psbA-trnH FN669027, trnQ-rps16 FN677879, rbcL FR853353.

Rhipsalis baccifera (J.S.Muell.) Stearn, Colombia, Huila, entre Gigante y Río Loro, R. Bauer 23 (B), CA117, trnK/matK FN669756, rpl16 FN673662, psbA-trnH FN669073, trnQ-rps16 FN677909, rbcL FR853379; Cuba, Prov. Cienfuegos, Mun. Cumanayagua, W. Greuter, T. Borsch, R. Rankin, J. León, D. Suárez 26982 (B, HAJB), CA138, trnK/matK FN995679, rpl16 FN995674, psbA-trnH FN995435, trnQ-rps16 FN995671, rbcL FR853393; BG Bonn 14745, Venezuela, Sucre, Paria, R. Bauer s.n., 1997 (B), CA013, trnK/matK FN669665, rpl16 FN673568, psbA-trnH FN669069, trnQ-rps16 FN677818, rbcL FR853293; BG Bonn 5859, Colombia, norte de La Paila, M. Koenen & S. Porembski 44 (B), CA135, trnK/matK FN669771, rpl16 FN673678, psbA-trnH FN669161, trnQ-rps16 FN677926, rbcL FR853391; BG Bonn 4678, Brazil, Pernambuco, Recife, P. Braun s.n.1988 (B), CA002, trnK/matK FN669655, rpl16 FN673556, psbA-trnH FN669070, trnQ-rps16 FN677807, rbcL FR853282.

Rhipsalis baccifera subsp. *erythrocarpa* (Schumann) Barthlott, BG Bonn 16390, Rwanda, Nyagatare, Umutara, E. Fischer 8051 (B), CA015, trnK/matK FN669667, rpl16 FN673570, psbA-trnH FN669084, trnQ-rps16 FN677820, rbcL FR853295.

Rhipsalis baccifera subsp. *hileiabaiana* N.P.Taylor, RBG Kew 1966-48932, Brazil, Bahia, Floresta Azul, Martins en Brieger 43, coll. before 1966 (K, in spirit), CA152, trnK/matK FR852591, rpl16 FR853121, psbA-trnH FR853114, trnQ-rps16 FR853126, rbcL FR853396.

Rhipsalis baccifera subsp. *horrida* (Baker) Barthlott, BG Bonn 5998, Madagascar, Fort Dauphin, W. Rauh 68614 (B), CA014, trnK/matK FN669666, rpl16 FN673569, psbA-trnH FN669082, trnQ-rps16 FN677819, rbcL FR853294.

Rhipsalis baccifera subsp. *mauritiana* (DC.) Barthlott, BG Bonn 6983, Ivory Coast, Taï National Park, S. Porembski, 5.5.1990 (B), FR853118 trnK/matK FR852593, rpl16 FR853124, psbA-trnH —, trnQ-rps16 FR853125, rbcL FR853399.

Rhipsalis cereuscula Haw., BG Bonn 12179, Bolivia, La Paz, Prov. Nor Yungas, cerca a Chulumani, M. Miyagawa, 9.4.1987 (B), CA050, trnK/matK FN669700, rpl16 FN673605, psbA-trnH FN669064, trnQ-rps16 FN677855, rbcL FR853329.

Rhipsalis floccosa subsp. *floccosa* Salm-Dyck, RBG Kew, sin datos de localidad, C. Erskine 164 (K, neotype), CA139, trnK/matK FN995680, rpl16 FN995675, psbA-trnH FN995436, trnQ-rps16 FN995672, rbcL FR853394.

Rhipsalis floccosa subsp. *hohenauensis* (F.Ritter) Barthlott & N.P.Taylor, RBG Kew 1991-1448, Paraguay, Reserva de Itabo, D. Zappi 92 (SPF), CA154, trnK/matK FR852592, rpl16 FR853120, psbA-trnH FR853115, trnQ-rps16 FR853129, rbcL FR853397.

Rhipsalis floccosa subsp. *oreophila* N.P. Taylor & Zappi, Brazil, Minas Gerais, Monte Azul, Braun s.n., CA132, trnK/matK FN669769, rpl16 FN673675, psbA-trnH FN669158, trnQ-rps16 FN677923, rbcL FR853388.

Rhipsalis floccosa subsp. *pulvinigera* (G.Lindb.) Barthlott & N.P.Taylor, BG Bonn 5744, Brazil, São Paulo, cerca de Campos do Jordao, W. Barthlott 90-2 (B), CA056, trnK/matK FN669705, rpl16 FN673611, psbA-trnH FN669050, trnQ-rps16 FN677861, rbcL FR853335; BG Bonn 5742, Brazil, Paraná, yendo de Itatiaia a Ponta Grossa, W. Barthlott 90-32 (B), CA057, trnK/matK FN669706, rpl16 FN673612, psbA-trnH FN669051, trnQ-rps16 FN677862, rbcL FR853336.

Rhipsalis floccosa subsp. *tucumanensis* (F.A.C.Weber) Barthlott & N.P. Taylor, BG Bonn 12956, Bolivia, Dep. Cochabamba, Prov. Chapare, C. & P. Ibisch. 93.762 (BOLV, LPB, FR, B), CA058, trnK/matK FN669707, rpl16 FN673613, psbA-trnH FN669053, trnQ-rps16 FN677863, rbcL FR853337.

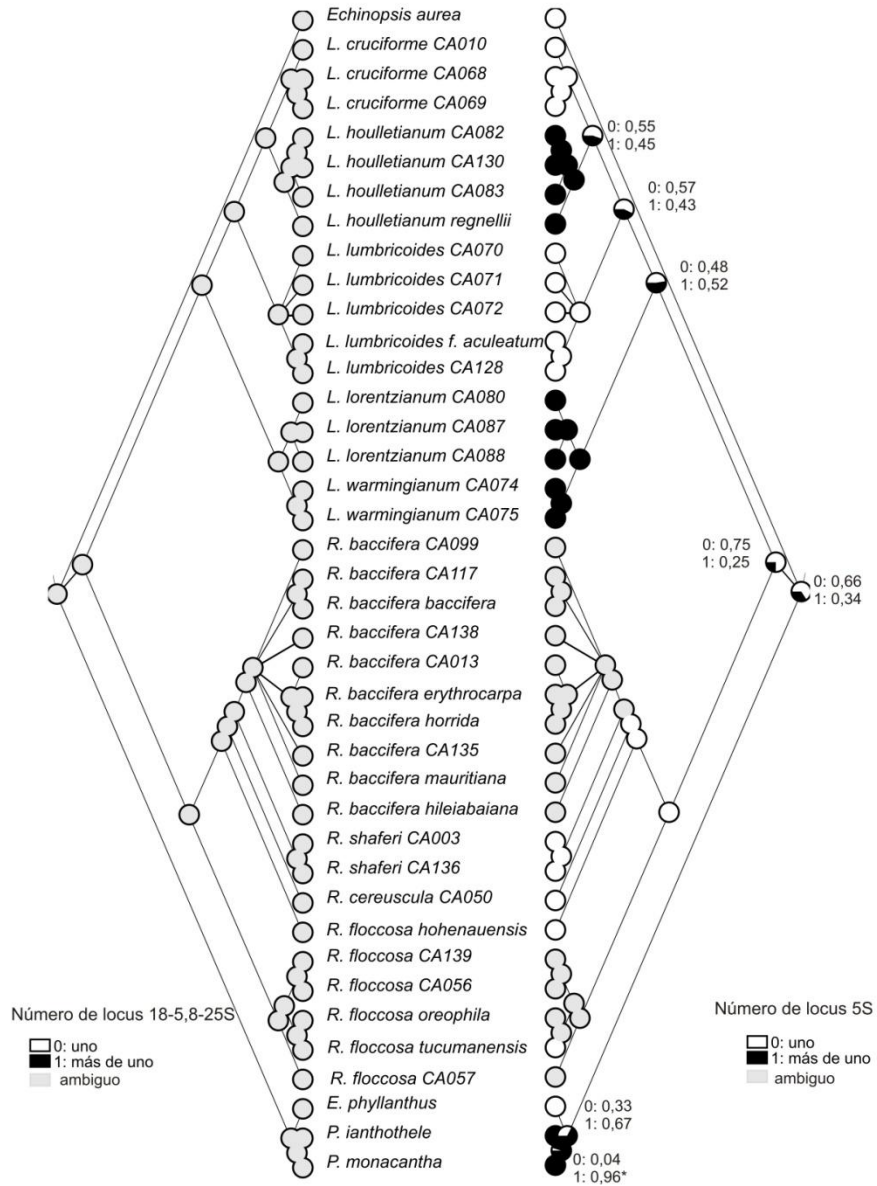
Anexo V: Matriz de caracteres discretos

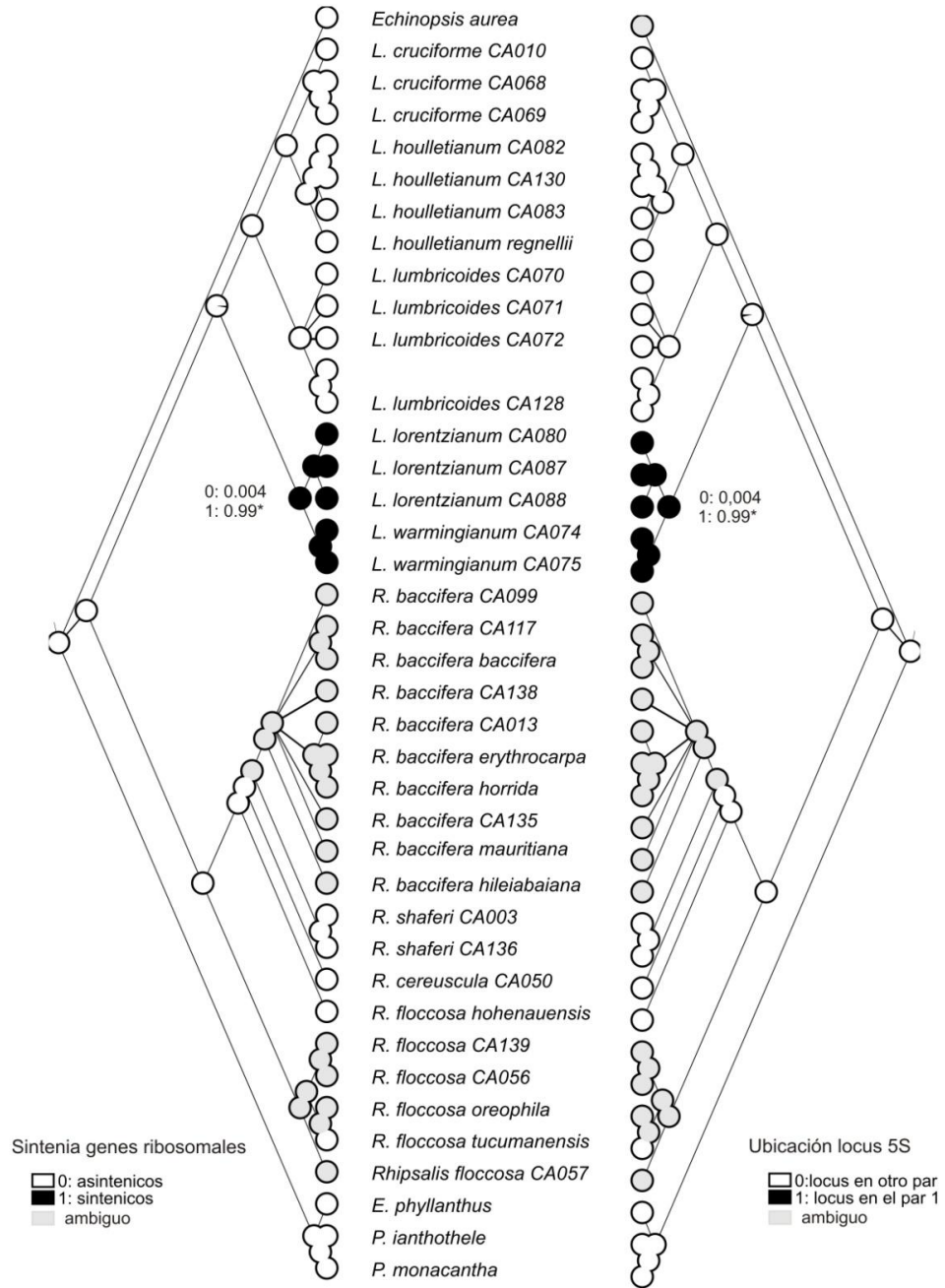
'Echinopsis_aurea'	100????0
'Epiphyllum_phyllanthus'	10000100
'Pfeiffera_ianthothele'	11001100
'Lepismium_cruciforme_CA010_BR'	10000010
'Lepismium_cruciforme_CA068_BR'	10000010
'Lepismium_cruciforme_CA069_BR'	10000010
'Lepismium_houlettianum_CA082_BR'	11001010
'Lepismium_houlettianum_CA083_BR'	11001010
'Lepismium_houlettianum_houlettianum_CA130'	11001010
'Lepismium_houlettianum_regnellii_CA081_BR'	11001010
'Lepismium_lorentzianum_CA080_AR'	11111001
'Lepismium_lorentzianum_CA087_BO'	11111001
'Lepismium_lorentzianum_CA088_BO'	11111001
'Lepismium_lumbricoides_CA070_BR'	10001000
'Lepismium_lumbricoides_CA071_BR'	10001000
'Lepismium_lumbricoides_CA072_BO'	10001000
'Lepismium_lumbricoides_f._aculeatum_CA129'	10000010
'Lepismium_lumbricoides_lumbricoides_CA128'	10001000
'Lepismium_warmingianum_CA074_BR'	11111000
'Lepismium_warmingianum_CA075_BR'	11111000
'Pfeiffera_monacantha_CA090'	11001100
'Rhipsalis_baccifera_CA099_CR'	????????
'Rhipsalis_baccifera_CA117_CO'	????????
'Rhipsalis_baccifera_CA138_CU'	????????
'Rhipsalis_baccifera_CA013_VE'	????????
'Rhipsalis_baccifera_CA135_CO'	????????
'Rhipsalis_baccifera_erythrocarpa_CA015_RW'	????????
'Rhipsalis_baccifera_hileiabaiana_CA152'	????????

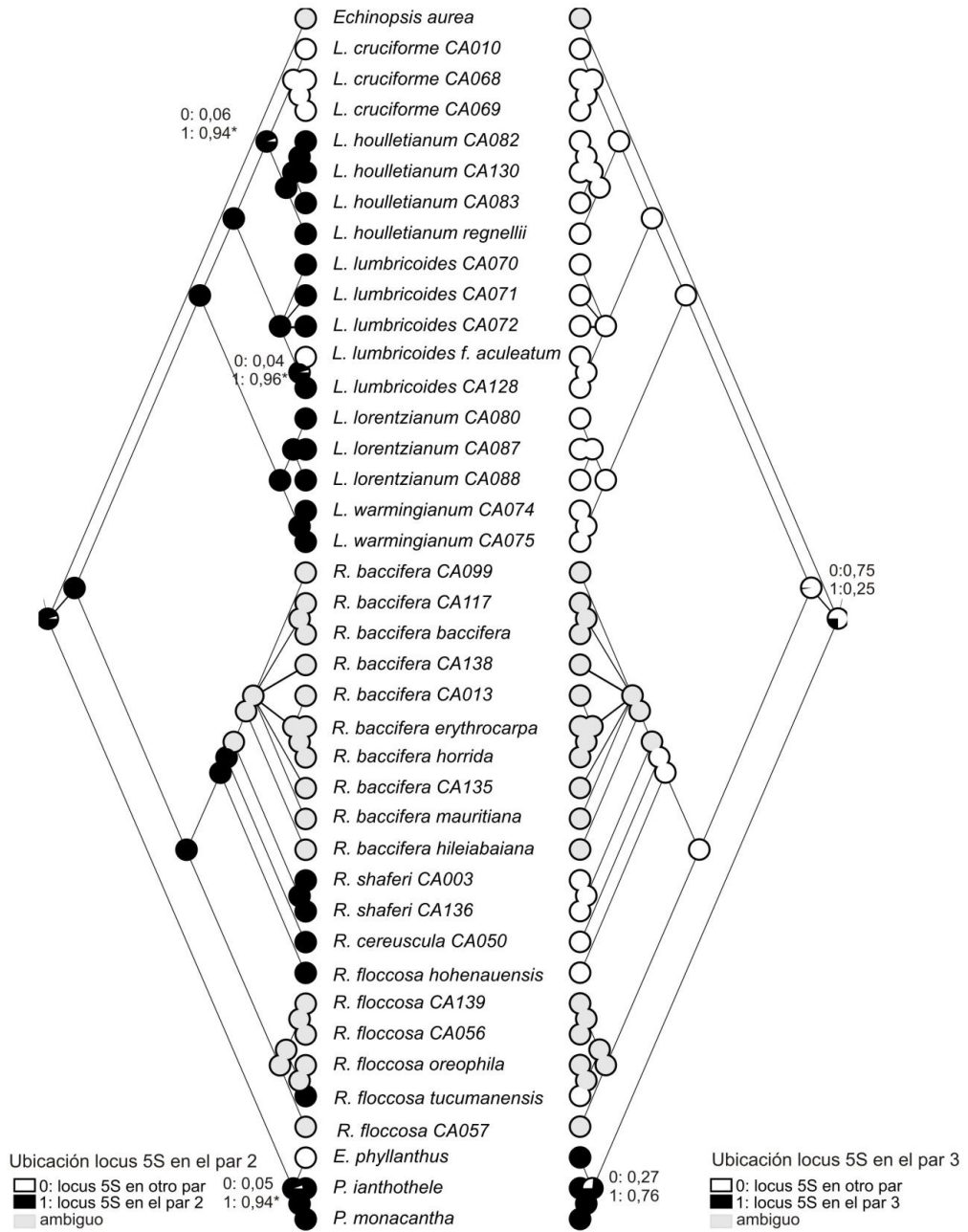
'Rhipsalis_baccifera_mauritiana_CA157'	?????????
'Rhipsalis_baccifera_subsp_horrida_CA014_MG'?????????	
'Rhipsalis_baccifera_subsp._baccifera_CA002_BR'?????????	
'Rhipsalis_cereuscula_CA050'	10001000
'Rhipsalis_floccosa_CA139'	?????????
'Rhipsalis_hohenauensis_CA154'	10001000
'Rhipsalis_oreophila_CA132'	?????????
'Rhipsalis_floccosa_CA056'	?????????
'Rhipsalis_floccosa_CA057'	?????????
'Rhipsalis_tucumanensis_CA058'	10001000
'Rhipsalis_shaferi_CA003'	10001000
'Rhipsalis_shaferi_CA136'	10001000

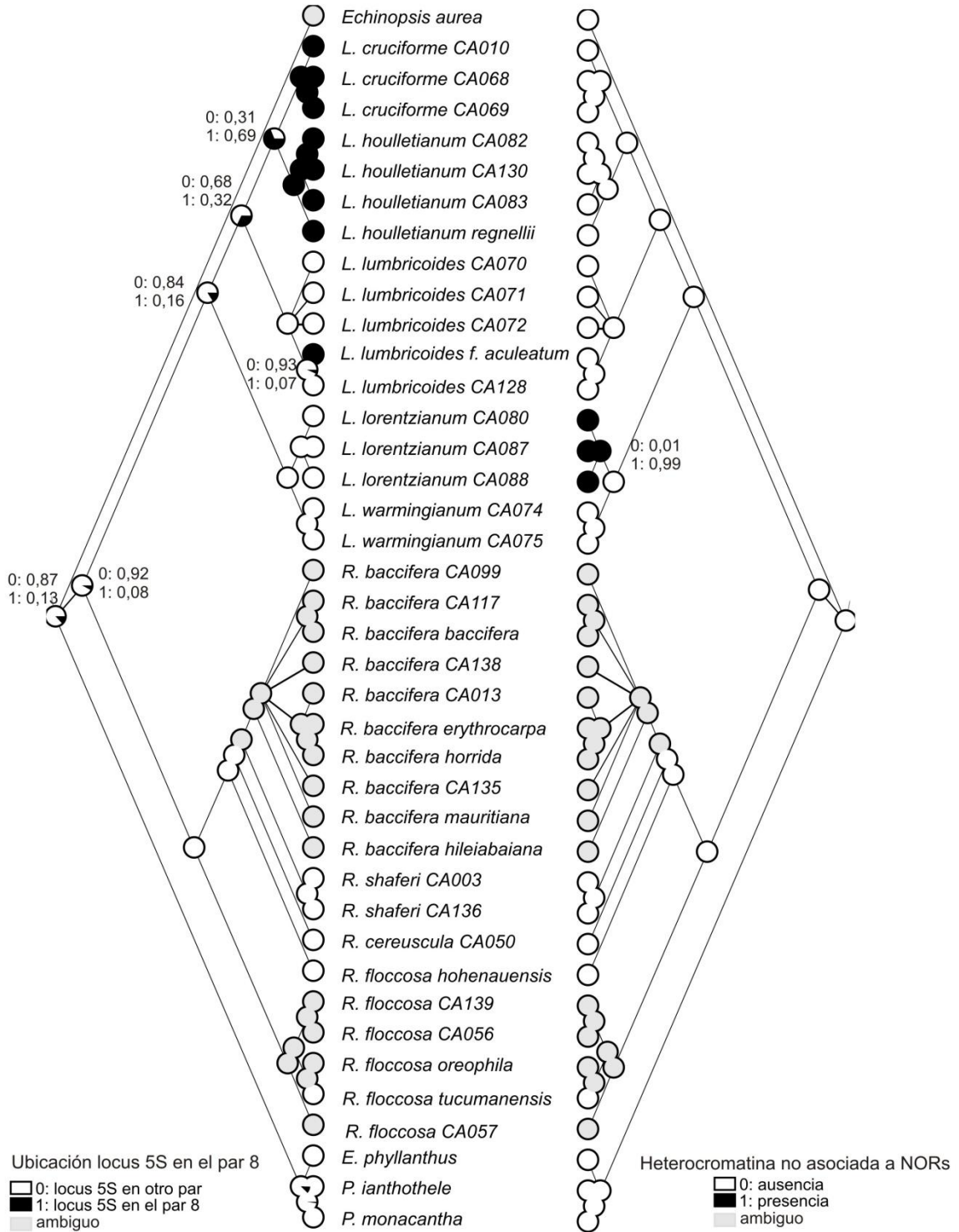
Anexo VI: Reconstrucción de caracteres ancestrales por Máxima Verosimilitud

Los círculos terminales corresponden al estado del carácter para el taxón terminal. Los gráficos de torta indican las probabilidades de Máxima Verosimilitud (LP) obtenidas bajo el modelo Mk1.









BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA M. C. 2006. Estudio cromosómico en *Nierembergia* y géneros afines (Nicotianeae - Solanaceae). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exáctas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.
- ALI H. B., LYSAK M. A. & SCHUBERT I. 2005. Chromosomal localization of rDNA in the Brassicaceae. *Genome* 48: 341-346.
- ALMEIDA, C. & PEDROSA-HARAND A. 2010. Contrasting rDNA evolution in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and common bean (*P. vulgaris* L., Fabaceae). *Cytogenetic and Genome Research* 132: 212-217.
- ANDERSON E. F. 2001. The Cactus Family. Timber Press, Portland, EUA.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP (APG III). 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.
- ARAKAKI M., CHRISTIN P. A., NYFFELER R., LENDEL A., EGGI U., OGBURN R. M., ESPRIGGS E., MOORE M. & EDWARDS E. J. 2011. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108: 8379-8384.
- ARAKAKI M., SOLTIS D. E. & SPERANZA P. 2007. New chromosome counts and evidence of polyploidy in *Haageocereus* and related genera in tribe Trichocereae and other tribes of Cactaceae. *Brittonia* 59: 290-297.
- AVRAMOVA Z. V. 2002. Heterochromatin in animals and plants. Similarities and differences. *Plant physiology* 129: 40-49.
- BAEZ C., SCHRADER O. & BUDAHN H. 2007. Characterization of geographically isolated accessions in five *Alstroemeria* L. species (Chile) using FISH of tandemly repeated DNA sequences and RAPD analysis. *Plant Systematics and Evolution* 269: 1-14.
- BAKER M. A., REBMAN J. P., PARFITT B. D., PINKAVA D. J. & ZIMMERMAN A. D. 2009. Chromosome numbers in some cacti of Western North America-VIII. *Haseltonia* 15: 117-134.
- BANDYOPADHYAY B. U. L. & SHARMA A. 2000. The use of multivariate analysis of karyotypes to determine relationships between species of *Opuntia* (Cactaceae). *Caryologia* 53: 121-126.
- BÁRCENAS R. T., YESSON C. & HAWKINS J. A. 2011. Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics* 27: 470-489.
- BARTHOLOTT W. 1983. Biogeography and evolution in neo and paleotropical Rhipsalinae. En: *Dispersal and Distribution* (K. Kubitzki ed.). Verlag Paul Parey, Hamburg, Germany. Pp: 241–248.
- BARTHOLOTT W. 1987. New names in Rhipsalideae (Cactaceae). *Bradleya* 5: 97–100.

- BARTHOLOTT W. & HUNT D. R. 1993. Cactaceae. En: The families and genera of vascular plants (vol. 2) (K. Kubitzki, J. G. Rohwer & V. Bittrich eds.) Springer Verlag, Berlín, Alemania. Pp: 161–197.
- BARTHOLOTT W. & TAYLOR N. P. 1995. Notes towards a monograph of Rhipsalideae (Cactaceae). *Bradleya* 13: 43-79.
- BAUER R. 2003. A synopsis of the tribe Hylocereeae F. Buxb. *Cactaceae Systematics Initiatives* 17: 3-63.
- BEARD E. C. 1937. Some chromosome complements in the Cactaceae and a study of meiosis in *Echinocereus papillosus*. *Botanical Gazette* 1-21.
- BENKO-ISEPPON A. M. & MORAWETZ W. 2000. Cytological comparison of Calyceraceae and Dipsacaceae with special reference to their taxonomic relationships. *Cytologia* 65: 123-128.
- BENNETZEN J. L. 2000. The many hues of plant heterochromatin. *Genome Biology* 1: 107.1-107.4.
- BERGER A. 1926. Die Entwicklungslinien der Kakteen. Gustav Fischer, Jena, Alemania.
- BERNARDELLO G., STIEFKENS L. & LAS PEÑAS M. L. 2008. Karyotype studies in *Grabowskia* and *Phrodus* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 275: 265-269.
- BESENDORFER V., KRAJAČIĆ-SOKOL I., JELENIĆ S., PUJIZINA J., MLINAREC J., SVIBEN T. & PAPEŠ D. 2005. Two classes of 5S rDNA unit arrays of the silver fir, *Abies alba* Mill.: structure, localization and evolution. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 730-741.
- BHATTACHARYYA P. K. 1970. Cytological study of *Deamia testudo* (Karw). *Britt. & Rose: A cactus growing wild in West Bengal. Science & Culture* 36: 108.
- BRIONES F., PALOMINO G. & GARCIA A. 2004. Chromosome analysis of *Mammillaria supertexta*, *M. crucigera* and *M. haageana* and their comparison with *M. san-angelensis* (Cactaceae). *Caryologia* 57: 211-218.
- BRITTON N. L. & ROSE J. N. 1919-23. The Cactaceae. Descriptions and illustrations of plants of the cactus family. Carnegie Institution, Washington, EUA.
- BUXBAUM F. 1967. Der gegenwärtige Stand der stammesgeschichtlichen Erforschung der Kakteen. *Kakt Sukk* 18: 22–27.
- BUXBAUM F. 1969. Die Entwicklungswege der Kakteen in Sudamerika. En: *Biogeography and ecology in South America* (E. J. Fittkau, J. Illies, H. Klinge, G. H. Schwabe & H. Sioli eds.) W. Junk, The Hague, Países Bajos. Pp: 583–623.
- CAI Q., ZHANG D., LIU Z. L. & WANG X. R. 2006. Chromosomal localization of 5S and 18S rDNA in five species of subgenus *Strobus* and their implications for genome evolution of *Pinus*. *Annals of Botany* 97: 715-722.
- CALVENTE A., ZAPPI D. C., FOREST F. & LOHMANN L. G. 2011 a. Molecular phylogeny of tribe Rhipsalideae (Cactaceae) and taxonomic implications for *Schlumbergera* and *Hatiora*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58: 456-468.

- CALVENTE A., ZAPPI D. C., FOREST F. & LOHMANN L. G. 2011 b. Molecular phylogeny, evolution, and biogeography of South American epiphytic cacti. *International Journal of Plant Sciences* 172: 902-914.
- CASTELLANOS A. 1925. *Rhipsalis argentinus*. *Anales Museo Nacional de Buenos Aires* 32: 477-500.
- CERBAH M., COULAUD J. & SILJAK-YAKOVLEV S. 1998. rDNA organization and evolutionary relationships in the genus *Hypochoeris* (Asteraceae). *Journal of Heredity* 89: 312-318.
- CHACÓN J., SOUSA A., BAEZA C. M. & RENNER S. S. 2012. Ribosomal DNA distribution and a genus-wide phylogeny reveal patterns of chromosomal evolution in *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae). *American Journal of Botany* 99: 1501-1512.
- CHIARINI F. E., SANTIÑAQUE F. F., URDAMPILLETA J. D. & LAS PEÑAS M. L. 2013. Genome size and karyotype diversity in *Solanum* sect. *Acanthophora* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution (on line)* 1-13.
- CID R. & PALOMINO G. 1996. Cytotypes and Meiotic Behavior in Mexican Populations of *Myrtillocactus geometrizans* var. *geometrizans* (Cactaceae). *Cytologia* 61: 343-348.
- COTA J. H. & PHILBRICK C. T. 1994. Chromosome number variation and polyploidy in the genus *Echinocereus* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 81: 1054-1062.
- COTA J. H. & WALLACE R. S. 1995. Karyotypic studies in the genus *Echinocereus* (Cactaceae) and their taxonomic significance. *Caryologia* 48: 105-122.
- COTA J. H. & WALLACE R. S. 1996. La citología y la sistemática molecular en la familia Cactaceae. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 41: 27-46.
- COTA-SÁNCHEZ J. H. & BOMFIM-PATRÍCIO M. C. 2010. Seed morphology, polyploidy and the evolutionary history of the epiphytic cactus *Rhipsalis baccifera* (Cactaceae). *Polibotánica* 29: 107-129.
- CRISCI J. V. & ARMENGOL M. F. L. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. OEA, Washington, EUA.
- CROZIER B. S. 2004. Subfamilies of Cactaceae Juss., including Blossfeldioideae subfam. nov. *Phytologia* 86: 52-64.
- DAS A. B., MOHANTY S. & DAS P. 1998 a. Interspecific variation of nuclear DNA and structural changes in meiotic and mitotic chromosome in some species of *Mammillaria* (Cactaceae). *Caryologia* 51: 289-301.
- DAS A. B., MOHANTY S., DAS P. 1998 b. Interspecific variation in nuclear DNA content and chromosome analysis in *Melocactus*. *Cytologia* 63: 239-247.
- DAS A. B. & MOHANTY S. 2006. Karyotype analysis and in situ nuclear DNA content in seven species of *Echinopsis* Zucc. of the family Cactaceae. *Cytologia* 71: 75-79.

- DAS A. B., MOHANTY S. & DAS P. 1999. 4C DNA Variations and Karyotype Diversity in Nine Species of *Ferocactus* B. & R. *Cytologia* 64: 17-24.
- DATSON P. M. & MURRAY B. G. 2006. Ribosomal DNA locus evolution in *Nemesia*: transposition rather than structural rearrangement as the key mechanism?. *Chromosome Research* 14: 845-857.
- DHAR M. K., FRIEBE B., KAUL S. & GILL B. S. 2006. Characterization and physical mapping of ribosomal RNA gene families in *Plantago*. *Annals of Botany* 97: 541-548.
- DE MELO N. F. & GUERRA M. 2003. Variability of the 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. *Annals of Botany* 92: 309-316.
- DEL ANGEL C., PALOMINO G., GARCÍA A. & MENDEZ I. 2006. Nuclear genome size and karyotype analysis in *Mammillaria* species (Cactaceae). *Caryologia* 59: 177-186.
- DI FULVIO T. E. 1977. Recuentos cromosómicos en Angiospermas argentinas III. *Kurtziana* 10: 69-72.
- DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZALEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C.W. 2012. InfoStat versión .Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: <http://www.infostat.com.ar>
- DOBIGNY G., DUCROZ J. F. & ROBINSON T. J. 2004. Cytogenetics and cladistics. *Systematic biology* 53: 470-484.
- EDGAR, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32: 1792-1797.
- FRELLO S. & HESLOP-HARRISON J. S. 2000. Chromosomal variation in *Crocus vernus* Hill (Iridaceae) investigated by in situ hybridization of rDNA and a tandemly repeated sequence. *Annals of Botany* 86: 317-322.
- GADELLA T. W. J., KLIPHUIS E. & NABER J. 1979. Chromosome numbers in the tribe Rhipsalinae (Cactaceae). *Botaniska Notiser* 132: 294.
- GAETA R. T. & PIRES J. C. 2010. Homoeologous recombination in allopolyploids: the polyploid ratchet. *New Phytologist* 186: 18-28.
- GAIERO P., MAZZELLA C., VAIO M., E SILVA A. B., SANTIÑAQUE F. F., LÓPEZ-CARRO B., FOLLE G. & GUERRA M. 2012. An unusually high heterochromatin content and large genome size in the palm tree *Trithrinax campestris* (Arecaceae). *Australian Journal of Botany* 60: 378-382.
- GARCIA S., GARNATJE T., HIDALGO O., MCARTHUR E. D., SILJAK-YAKOVLEV S. & VALLES J. 2007. Extensive ribosomal DNA (18S-5.8 S-26S and 5S) colocalization in the North American endemic sagebrushes (subgenus *Tridentatae*, *Artemisia*, Asteraceae) revealed by FISH. *Plant Systematics and Evolution* 267: 79-92.

- GARCIA S., PANERO J., SIROKY J. & KOVARIK A. 2010. Repeated reunions and splits feature the highly dynamic evolution of 5S and 35S ribosomal RNA genes (rDNA) in the Asteraceae family. *BMC Plant Biology* 10: 176.
- GAUT B. S. & ROSS-IBARRA J. 2008. Selection on major components of angiosperm genomes. *Science* 320: 484-486.
- GERLACH W. L. & BEDBROOK J. R. 1979. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. *Nucleic Acids Research* 7: 1869-1885.
- GIBSON A. C. & NOBEL P. S. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press, Massachusetts, EUA.
- GOLOBOFF P. A., FARRIS J. S. & NIXON K. C. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774-786.
- GRANT V. 1981. *Plant speciation*. Columbia University Press, New York, EUA.
- GRANT V. 1982. Chromosome number patterns in primitive angiosperms. *Botanical Gazette* 143:390-394.
- GREILHUBER J. & EHRENDORFER F. 1988. *Karyological approaches to plant taxonomy*. ISI atlas of science: Animal and plant sciences 1.
- GRIMALDO-JUÁREZ O., GARCÍA V. A., ORTIZ C. J. & RUIZ P. L. M. 2001. Características cariotípicas de seis genotipos de pitahaya. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 7: 177-195.
- GUERRA M. 2000. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes. *Genetics and Molecular Biology* 23: 1029-1041.
- GUERRA M. 2008. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. *Cytogenetic and Genome Research* 120:339-350.
- GUERRA M. 2012. Cytotaxonomy: the end of childhood. *Plant Biosystems—An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 146: 703-710.
- GUERRA M. & SOUZA M. J. 2002. *Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana*. FUNPEC editora, Ribeirão Preto, San Pablo, Brasil.
- GUERRA M., DOS SANTOS K. G. B., E SILVA A. E. B. & EHRENDORFER F. 2000. Heterochromatin banding patterns in Rutaceae-Aurantioideae—a case of parallel chromosomal evolution. *American Journal of Botany* 87: 735-747.
- HALL K. J. & PARKER J. S. 1995. Stable chromosome fission associated with rDNA mobility. *Chromosome Research* 3: 417-422.
- HAMON P., SILJAK-YAKOVLEV S., SRISUWAN S., ROBIN O., PONCET V., HAMON S. & DE KOCHKO A. 2009. Physical mapping of rDNA and heterochromatin in chromosomes of 16 *Coffea* species: a revised view of species differentiation. *Chromosome Research* 17: 291-304.

- HANSON R. E., ISLAM-FARIDI M. N., PERCIVAL E. A., CRANE C. F., JI Y., MCKNIGHT T. D., STELLY D. & PRICE H. J. 1996. Distribution of 5S and 18S-28S rDNA loci in a tetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and its putative diploid ancestors. *Chromosoma* 105: 55-61.
- HASTEROK R., WOLNY E., HOSIAWA M., KOWALCZYK M., KULAK-KSIAZCZYK S., KSIAZCZYK T., HENEEN W. & MALUSZYNSKA J. 2006. Comparative analysis of rDNA distribution in chromosomes of various species of Brassicaceae. *Annals of Botany* 97: 205-216.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ T., HERNÁNDEZ H. M., DE-NOVA J. A., PUENTE R., EGUIARTE L. E. & MAGALLÓN S. 2011. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany* 98: 44-61.
- HERSHKOVITZ M. A. & ZIMMER E. A. 1997. On the evolutionary origins of the cacti. *Taxon* 46: 217-232.
- HESLOP-HARRISON J. S. & SCHWARZACHER T. 2011. Organisation of the plant genome in chromosomes. *The Plant Journal* 66: 18-33.
- HUNT D. & TAYLOR N. 1990. The genera of Cactaceae: progress towards consensus. *Bradleya* 8: 85-107.
- HUNT D., TAYLOR N. & CHARLES G. 2006. *The New Cactus Lexicon*. DH Books, Milborne Port, RU.
- HUSBAND B. C., BALDWIN S. J. & SUDA J. 2013. The incidence of polyploidy in natural plant populations: major patterns and evolutionary processes. En: *Plant Genome Diversity Vol 2.: Physical Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes*. (I. J. Leitch, J. Greilhuber, J. Dolezel & J. Wendel eds.) Springer, Vienna, Austria. Pp: 255-276.
- JANG T. S., EMADZADE K., PARKER J., TEMSCH E. M., LEITCH A. R., SPETA F. & WEISS-SCHNEEWEISS H. 2013. Chromosomal diversification and karyotype evolution of diploids in the cytologically diverse genus *Prospero* (Hyacinthaceae). *BMC Evolutionary Biology* 13: 136.
- JOHNSON M. A. T. 1980. Further cytological investigations in *Mammillaria prolifera* and other *Mammillaria* species. *Cactus and Succulent Journal of Great Britain* 42: 43-47.
- JIANG J. & GILL B. S. 1994. Nonisotopic in situ hybridization and plant genome mapping: the first 10 years. *Genome* 37: 717-725.
- JIANG J. & GILL B. S. 2006. Current status and the future of fluorescence in situ hybridization (FISH) in plant genome research. *Genome* 49: 1057-1068.
- JUDD W. S., CAMPBELL C. S., KELLOGG, E. A. & STEVENS P. F. 1999. *Plant Systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Sunderland, EUA.
- KAMBLE S. Y. 1993. IOPB chromosome data 6. *Newsletter International Organization of Plant Biosystematists* 21: 3.
- KAMBLE S. Y. 1997. IOPB chromosome data 11. *Newsletter International Organization of Plant Biosystematists* 26/27: 22.

- KAO Y. Y., CHANG S. B., LIN T. Y., HSIEH C. H., CHEN Y. H., CHEN W. H. & CHEN C. C. 2001. Differential accumulation of heterochromatin as a cause for karyotype variation in *Phalaenopsis* orchids. *Annals of Botany* 87: 387-395.
- KIESLING R. 1980. *Gymnocalycium mesopotamicum* sp. nov. *Cactus and Succulent Journal of Great Britain* 42:39-42.
- KIESLING R. 1988. Cactaceae. En *Flora Patagónica* 5, Dicotiledoneas dialipétalas (Oxalidaceae a Cornaceae). (M. N. Correa ed.). Colección Científica del INTA 8, Buenos Aires, Argentina. Pp. 218–243.
- KIESLING, R. 2006. Cactaceae. En: *Catálogo de las Plantas Vasculares de la Republica Argentina*. (F. Zuloaga & O. Morrone eds.) *Monographs in Systematics Botany from the Missouri Botanical Garden, Saint Louis, EUA*. Vol 2, Pp: 1125–1246.
- KIESLING R., LARROCCA L., FAÚNDEZ J., METZING D., ALBESIANO S. 2008. Cactaceae. En: *Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur* (F.O. Zuloaga, O. Morrone & M. J. Belgrano eds.) *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 107, Saint Louis, EUA. Vol 2, Pp: 1715-1830.
- KOROTKOVA N., ZABEL L., QUANDT D. & BARTHLOTT W. 2010. A phylogenetic analysis of *Pfeiffera* and the reinstatement of *Lymanbensonia* as an independently evolved lineage of epiphytic Cactaceae within a new tribe Lymanbensoieae. *Willdenowia-Annals of the Botanic Garden and Botanical Museum Berlin-Dahlem* 40: 151-172.
- KOROTKOVA N., BORSCH T., QUANDT D., TAYLOR N. P., MÜLLER K. F. & BARTHLOTT W. 2011. What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from the epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). *American Journal of Botany* 98: 1549-1572.
- LAMB J.C., YU W., HAN F., BIRCHLER J.A. 2007. Plant chromosomes from end to end: telomeres, heterochromatin and centromeres. *Current Opinion in Plant Biology* 10:116-122.
- LAN T. & ALBERT V. A. 2011. Dynamic distribution patterns of ribosomal DNA and chromosomal evolution in *Paphiopedilum*, a lady's slipper orchid. *BMC Plant Biology* 11: 126.
- LAS PEÑAS M. L. 2009. *Estudios Citogenéticos en Cactaceae de Argentina*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exáctas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.
- LAS PEÑAS M. L., BERNARDELLO G. & KIESLING R. 2008. Karyotypes and fluorescent chromosome banding in *Pyrrhocactus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution* 272:211-222.
- LAS PEÑAS M. L., BERNARDELLO G., STEIBEL P. E. & TROIANI H. O. 2006. Cytogenetic studies in *Schinus* species (Anacardiaceae). *Arnaldoa* 13: 270-275.
- LAS PEÑAS M. L., KIESLING R. & BERNARDELLO G. 2011. Karyotype, heterochromatin, and physical mapping of 5S and 18-5.8-26S rDNA genes in *Setiechinopsis* (Cactaceae), an Argentine endemic genus. *Haseltonia* 16: 83-90.

- LAS PEÑAS M. L., URDAMPILLETA J. D., BERNARDELLO G. & FORNI-MARTINS E. R. 2009. Karyotypes, heterochromatin, and physical mapping of 18S-26S rDNA in Cactaceae. *Cytogenetic and Genome Research* 124: 72-80.
- LAS PEÑAS M. L., URDAMPILLETA J. D., LÓPEZ-CARRO B., SANTIÑAQUE F., KIESLING R. & BERNARDELLO G. 2013. Classical and molecular cytogenetics and DNA content in *Maihuenia* and *Pereskia* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution (on line)* 1-10.
- LEE S. H., DO G. S. & SEO B. B. 1999. Chromosomal localization of 5S rRNA gene loci and the implications for relationships within the *Allium* complex. *Chromosome Research* 7: 89-94.
- LEUENBERGER B. E. 1986. *Pereskia* (Cactaceae). *Memorials of the New York Botanical Garden* 41: 1-141.
- LEUENBERGER B. E. 1997. *Maihuenia*—monograph of a Patagonian genus of Cactaceae. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 119: 1–92.
- LEVIN D. A. 2002. The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford University Press, New York, EUA.
- LEVIN D. A. & FUNDERBURG S. W. 1979. Genome size in angiosperms: temperate versus tropical species. *American Naturalist* 114: 784-795.
- LEWIS W. H. 1980. Polyploidy in angiosperms: dicotyledons. En: Polyploidy biological relevance. (W. H. Lewis ed.) Plenum, New York, EUA. Pp: 241-268.
- LEVAN A., FREDGA K. & SANDBERG A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- LICHTENZVEIG J., ABBO S., NERD A., TEL-ZUR N. & MIZRAHI Y. 2000. Cytology and mating systems in the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*. *American Journal of Botany* 87: 1058-1065.
- LIM K. Y., MATYÁŠEK R., LICHTENSTEIN C. P. & LEITCH A. R. 2000. Molecular cytogenetic analyses and phylogenetic studies in the *Nicotiana* section *Tomentosae*. *Chromosoma* 109: 245-258.
- LIMA-DE-FARIA A. 1976. The chromosome field. *Hereditas* 83: 1-22.
- MADDISON W. P. & MADDISON D. R. 2011. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. V 2.71 and 2.73. URL: <http://mesquiteproject.org/>
- MAJURE L., JUDD W., SOLTIS P. & SOLTIS D. 2012. Cyto geography of the Humifusa clade of *Opuntia* ss Mill. 1754 (Cactaceae, Opuntioideae, Opuntieae): correlations with pleistocene refugia and morphological traits in a polyploid complex. *Comparative Cytogenetics* 6: 53-77.
- MALUSZYNSKA J. & HESLOP-HARRISON J. S. 1993. Physical mapping of rDNA loci in *Brassica* species. *Genome* 36: 774-781.
- MARTÍNEZ J., VARGAS P., LUCEÑO M. & CUADRADO Á. 2010. Evolution of *Iris* subgenus *Xiphium* based on chromosome numbers, FISH of nrDNA (5S, 45S) and trnL–trnF sequence analysis. *Plant Systematics and Evolution* 289: 223-235.

- MASTERSON J. 1994. Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* 264: 421-423.
- MAUSETH J. D. 1990. Continental drift, climate and the evolution of cacti. *Cactus and Succulent Journal* 62: 302-308.
- MAUSETH J. D., UOZUMI Y., PLEMONS B. J. & LANDRUM J. V. 1995. Structural and systematic study of an unusual tracheid type in cacti. *Journal of Plant Research* 108: 517–526.
- METZING D. & KIESLING R. 2008. The study of cactus evolution: The pre-DNA era. *Haseltonia* 14: 6-25.
- MEYERS L. A. & LEVIN D. A. 2006. On the abundance of polyploids in flowering plants. *Evolution* 60: 1198-1206.
- MIHALTE L., SESTRAS R. E., FESZT G. & TAMAS E. 2011. Assessment of genetic variation on four genera of Cactaceae using taxonomic, cytological and molecular markers methods. *Plant Omics Journal* 4: 142-148.
- MORALES A. G., AGUIAR-PERECIN M. L. R. & MONDIN M. 2012. Karyotype characterization reveals an up and down of 45S and 5S rDNA sites in *Crotalaria* (Leguminosae-Papilionoideae) species of the section *Hedriocarpae* subsection *Macrostachyae*. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59: 277-288.
- MORENO N. C., STIEFKENS L., LAS PEÑAS M. L., BARTOLI A., TORTOSA R. & BERNARDELLO G. 2012. Molecular cytogenetic studies of the “*Xanthocephalum group*”(Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution*, 298: 1503-1514.
- MOSCONE E. A., KLEIN F., LAMBROU M., FUCHS J. & SCHWEIZER D. 1999. Quantitative karyotyping and dual-color FISH mapping of 5S and 18S-25S rDNA probes in the cultivated *Phaseolus* species (Leguminosae). *Genome* 42: 1224-1233.
- MOSCONE E. A., BARANYI M., EBERT I., GREILHUBER J., EHRENDORFER F. & HUNZIKER A. T. 2003. Analysis of nuclear DNA content in *Capsicum* (Solanaceae) by flow cytometry and Feulgen densitometry. *Annals of Botany* 92: 21-29.
- MOSTI S., FIORINI G. & PAPINI A. 2011. Karyological investigations on several species of genus *Rebutia* Sect. *Digitorebutia* (Cactaceae). *Caryologia* 64: 352-360.
- MUKAI Y., ENDO T. R. & GILL B. S. 1990. Physical mapping of the 5S rRNA multigene family in common wheat. *Journal of Heredity* 81: 290-295.
- NEGRÓN-ORTIZ V. 2007. Chromosome numbers, nuclear DNA content, and polyploidy in *Consolea* (Cactaceae), an endemic cactus of the Caribbean Islands. *American Journal of Botany* 94: 1360-1370.
- NIXON K. C. 1999. The parsimony ratchet, a new method for rapid parsimony analysis. *Cladistics* 15: 407-414.

- NYFFELER R. 2002. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/matK and trnL-trnF sequences. *American Journal of Botany* 89: 312-326.
- NYFFELER R. & EGGLE U. 2010. A Farewell to dated ideas and concepts: molecular phylogenetics and a revised suprageneric classification of the family Cactaceae. *Schumannia* 6. *Biodiversity & Ecology* 3: 109–149.
- OCAMPO G. & COLUMBUS T. 2010. Molecular phylogenetics of suborder Cactineae (Caryophyllales), including insights into photosynthetic diversification and historical biogeography. *American Journal Botanical* 97: 1-21.
- ORTOLANI F. A., MATAQUEIRO M. F. & MORO J. R. 2007. Caracterização citogenética em *Schlumbergera truncata* (Haworth) Moran e *Schlumbergera × buckleyi* (T. Moore) Tjaden (Cactaceae). *Acta Botanica Brasilica* 21: 361–367.
- PALOMINO G. & HERAS H. M. 2001. Karyotypic studies in *Opuntia cochineria*, *O. hyptiacantha*, and *O. streptacantha* (Cactaceae). *Caryologia* 54: 147-154.
- PALOMINO G., ZULETA S. & SCHEINVAR L. 1988. Estudios citogenéticos de dos especies y una variedad del género *Nyctocereus* (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 48: 75-79.
- PALOMINO G., DOLEZEL J., CID R., BRUNNER I., MÉNDEZ I. & RUBLUO A. 1999. Nuclear genome stability of *Mammillaria san-angelensis* (Cactaceae) regenerants induced by auxins in long-term in vitro culture. *Plant Science* 141: 191-200.
- PANKIN V. K. 1999. Karyology of the tribe Rhipsalideae. *Citologija* 41: 1073–1074.
- PANKIN V. K. 2005. Karyological analysis of some epiphytic cactus species in the tribes Rhipsalideae and Hylocereeae. *Bjulleten' Glavnogo Botaniceskogo Sada* 189: 136–150.
- PEDROSA A., SCHWEIZER D. & GUERRA M. 2000. Cytological heterozygosity and the hybrid origin of sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 361-367.
- PEDROSA A., VALLEJOS C., BACHMAIR A. & SCHWEIZER D. 2003. Integration of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) linkage and chromosomal maps. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 205-212.
- PEDROSA-HARAND A., DE ALMEIDA C. C. S., MOSIOLEK M., BLAIR M. W., SCHWEIZER D. & GUERRA M. 2006. Extensive ribosomal DNA amplification during Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evolution. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 924-933.
- PEEV, D. 1976. In IOPB chromosome number reports LIV. *Taxon* 25: 631–649.
- PERUZZI L., LEITCH I. J. & CAPARELLI K. F. 2009. Chromosome diversity and evolution in Liliaceae. *Annals of Botany* 103: 459-475.
- PINKAVA D. J. & MCLEOD M. G. 1971. Chromosome numbers in some cacti of western North America. *Brittonia* 23: 171-176.
- PINKAVA D. J. & PARFITT B. D. 1982. Chromosome numbers in some cacti of western North America IV. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 109: 121-128.

- PINKAVA D. J., BAKER M. A., PARFITT B. D. & MOHLENBROCK M. W. 1985. Chromosome numbers in some cacti of Western North America V. *Systematic Botany* 10: 471-483.
- POSADA D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution* 25: 1253-1256.
- RAMBAUT A. & DRUMMOND A. J. 2012. Tracer v 1. 5. 2009. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>. Accessed, 24.
- RAN Y., HAMMETT K. R. & MURRAY B. G. 2001. Phylogenetic analysis and karyotype evolution in the genus *Clivia* (Amaryllidaceae). *Annals of Botany* 87: 823-830.
- RAN Y., MURRAY B. G. & HAMMETT K. R. W. 1999. Karyotype analysis of the genus *Clivia* by Giemsa and fluorochrome banding and in situ hybridization. *Euphytica* 106: 139-147.
- RASBAND W.S. 1997-2009. ImageJ U.S. National Institutes of Health, Maryland, EUA. URL: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.
- RASKINA O., BARBER J. C., NEVO E. & BELYAYEV A. 2008. Repetitive DNA and chromosomal rearrangements: speciation-related events in plant genomes. *Cytogenetic and Genome Research* 120: 351-357.
- RAVEN P. H. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: cytology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62: 724-764.
- REMSKI M. F. 1954. Cytological investigations in *Mammillaria* and some associated genera. *Botanical Gazette* 116:163-171.
- ROA F. & GUERRA M. 2012. Distribution of 45S rDNA sites in chromosomes of plants: Structural and evolutionary implications. *BMC Evolutionary Biology* 12: 225.
- ROMERO ZARCO C. R. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-530.
- RONQUIST F. & HUELSENBECK J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- ROSS R. 1981. Chromosome counts, cytology, and reproduction in the Cactaceae. *American Journal of Botany* 68: 463-470.
- RÖSER M. 1994. Pathways of karyological differentiation in palms (Arecaceae). *Plant Systematics and Evolution* 189: 83-122.
- RUFFINI CASTIGLIONE M. & CREMONINI R. 2012. A fascinating island: 2 n= 4. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 146: 711-726.
- SARKAR A. K., DATTA N., CHATTERJEE U. & HAZRA D. 1982. IOPB chromosome number reports LXXVI. *Taxon* 31: 576-579.

- SCALDAFERRO M. A., GRABIELE M. & MOSCONE E. A. 2013. Heterochromatin type, amount and distribution in wild species of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 693-709.
- SCHUBERT I. 2007. Chromosome evolution. *Current opinion in plant biology* 10: 109-115.
- SCHUBERT I. & LYSAK M. A. 2011. Interpretation of karyotype evolution should consider chromosome structural constraints. *Trends in Genetics* 27: 207-216.
- SCHUBERT I. & WOBUS U. 1985. In situ hybridization confirms jumping nucleolus organizing regions in *Allium*. *Chromosoma* 92: 143-148.
- SCHUMANN K. 1899. Die Verbreitung der Cactaceae in Verhältniss zu ihrer systematischen Gliederung. Königl Akademie der Wissenschaften, Berlin, Alemania.
- SCHWARZACHER T. 2003. DNA, chromosomes, and in situ hybridization. *Genome* 46: 953-962.
- SCHWARZACHER T. & HESLOP-HARRISON P. 2000. Practical in situ hybridization. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford.
- SCHWEIZER D. 1976. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. *Chromosoma* 58: 307-324.
- SCHWEIZER D. & AMBROS P. F. 1994. Chromosome banding. En: *Chromosome Analysis Protocols* Gosden J. R. (ed). *Methods in Molecular Biology* 29, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, EUA. Pp: 97-112.
- SHENG M.Y. & WANG L. 2010. Chromosomal localization of 45S and 5S rDNA in 14 species and the implications for genome evolution of genus *Epimedium*. *Plant Systematics and Evolution*. 290: 65-73.
- SHIBATA F. & HIZUME M. 2002. Evolution of 5S rDNA units and their chromosomal localization in *Allium cepa* and *Allium schoenoprasum* revealed by microdissection and FISH. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 167-172.
- SLOTKIN R. K. & MARTIENSSSEN R. 2007. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nature Reviews Genetics* 8: 272-285.
- SNEATH P. H. & SOKAL R. R. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. Freeman, San Francisco, EUA.
- SOKAL R. R. & ROHLF F. J. 1995. Biometry. WH Freeman & Co, New York, EUA.
- SOLTIS D. E., SOLTIS P. S., SCHEMSKE D. W., HANCOCK J. F., THOMPSON J. N., HUSBAND B. C. & JUDD W. S. 2007. Autopolyploidy in angiosperms: have we grossly underestimated the number of species?. *Taxon* 56: 13-30.
- SOUZA L. G. R., CROSA O. & GUERRA M. 2010. Karyological circumscription of *Ipheion* Rafinesque (Gilliesioideae, Alliaceae). *Plant Systematics and Evolution* 287: 119-127.

- SOUZA L. G. R., CROSA O., SPERANZA P. & GUERRA M. 2012. Cytogenetic and molecular evidence suggest multiple origins and geographical parthenogenesis in *Nothoscordum gracile* (Alliaceae). *Annals of Botany* 109: 987-999.
- SPEIRS D. C. 1982. The cacti of western Canada (Part 3). *National Cacti and Succulent Journal* 37: 53-54.
- SPENCER J. L. 1955. A cytological study of the Cactaceae of Puerto Rico. *Botanical Gazette* 117:33-37.
- STEBBINS G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. *Cytology, Genetics and Evolution*, Cambridge, RU.
- SUMMER A. T 1990. Chromosome Banding. Unwin Hyman Ltd., London, RU.
- TAKETA S., HARRISON G. E. & HESLOP-HARRISON J. S. 1999. Comparative physical mapping of the 5S and 18S-25S rDNA in nine wild *Hordeum* species and cytotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 1-9.
- TAMURA K., PETERSON D., PETERSON N., STECHER G., NEI M. & KUMAR S. 2011 MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- TAYLOR N. P. & ZAPPI D. C. 2004. Cacti of eastern Brazil. The Royal Botanical Garden, Kew, RU.
- TEL-ZUR N., ABBO S., BAR-ZVI D. & MIZRAHI Y. 2004. Genetic relationships among *Hylocereus* and *Selenicereus* vine cacti (Cactaceae): evidence from hybridization and cytological studies. *Annals of Botany* 94: 527-534.
- TEL-ZUR N., ABBO S., BAR-ZVI D. & MIZRAHI Y. 2005. Cytogenetics of semi-fertile triploid and aneuploid intergeneric vine cacti hybrids. *Journal of Heredity* 96: 124-131.
- TEL-ZUR N., MOUYAL J., CISNEROS A. & MIZRAHI Y. 2012. Intergeneric hybridization within the tribe Hylocereeae, subfamily Cactoideae (Cactaceae). *Israel Journal of Plant Sciences* 60: 325-334.
- THOMPSON M. 1993. The genus *Disocactus*. Kimnach M. (ed.). *Haseltonia* 1: 95-139.
- UHL C. H. 1978. Chromosomes of Mexican *Sedum*: 2, Section *Pachysedum*. *Rhodora* 80: 491-512.
- VANZELA A. L., CUADRADO A. & GUERRA M. 2003. Localization of 45S rDNA and telomeric sites on holocentric chromosomes of *Rhynchospora tenuis* (Cyperaceae). *Genetics and Molecular Biology* 26: 199-202.
- VOSA C. G. 1976. Heterochromatic patterns in *Allium*: The relationship between the species of the cepa group and its allies. *Heredity* 36: 383-392.
- WALLACE R. 1994. Phylogenetic analysis. *Succulent Plant Research* 1: 125-130.
- WALLACE R. S. 1995. Molecular systematic study of the Cactaceae: using chloroplast DNA variation to elucidate cactus phylogeny. *Bradleya* 13: 1-12.

WALLACE R. S. & GIBSON A. C. 2002. Evolution and Systematics. En: Cactus: biology and uses (P. S. Nobel ed.). Harvard University Press, Massachusetts, EUA. Pp: 1-21.

WEISS-SCHNEEWEISS H. & SCHNEEWEISS G. M. 2013. Karyotype diversity and evolutionary trends in angiosperms. En: Plant Genome Diversity Vol 2.: Physical Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes (I. J. Leitch, J. Greilhuber, J. Dolezel & J. Wendel eds.) Springer, Vienna, Austria. Pp: 209-230.

WEISS-SCHNEEWEISS H., TREMETSBERGER K., SCHNEEWEISS G. M., PARKER J. S. & STUESSY T. F. 2008. Karyotype diversification and evolution in diploid and polyploid South American *Hypochaeris* (Asteraceae) inferred from rDNA localization and genetic fingerprint data. *Annals of Botany* 101: 909-918.

ZOTZ G. 2013. The systematic distribution of vascular epiphytes – a critical update. *Botanical Journal of the Linnean Society* 171: 453–481.