

Niveles de ploidía en plantas nativas y cultivadas de la familia Amaryllidaceae de Paraguay

Irala, D.E.¹ ; Gianini Aquino, A.C.² ; Rodríguez Mata O.A.^{2,3} ; Honfi, A.I.² ; Daviña, J.R.^{2*} 

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Laboratorio de Recursos Vegetales. Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

²Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal – Lab. de Citogenética Vegetal, FCEQyN, Instituto de Biología Subtropical – Concejo Nacional de Ciencias y Tecnología - Universidad Nacional de Misiones, (IBS-CONICET-UNaM), nodo Posadas, Misiones, Argentina

³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA-Rafaela Ruta 34 Km 227, 2300 Rafaela, Santa Fe, Argentina

*autor por correspondencia: juliordavina@gmail.com

Niveles de ploidía en plantas nativas y cultivadas de la familia Amaryllidaceae del Paraguay. La tribu Hippeastreae es compleja taxonómicamente, cariológicamente variable y posee importancia fitoquímica y ornamental, cuyo centro de distribución se encuentra en la región subtropical de Sudamérica. Particularmente, Paraguay dispone de escasa información sobre citología y reproducción de procedencias nativas de esta tribu. A fin de contribuir con la caracterización de fitorecursos paraguayos nativos de la tribu, se ha determinado el nivel de ploidía con técnicas citogenéticas, citometría de flujo y caracterización reproductiva sobre fertilidad. Se analizaron individuos de poblaciones naturales y de material cultivado del Departamento Central, Paraguay, durante los años 2019 y 2022. Se encontraron los siguientes números somáticos: *Habranthus brachyandrus* (Baker) Sealy, $2n = 4x = 24$; *Habranthus tubispathus* (L'Hér.) Traub, $2n = 4x = 24$; *Hippeastrum puniceum* (Lam.) Voss, $2n = 2x = 22$; *H. vittatum* (L'Her.) Herb., $2n = 4x = 44$; y *Z. mesochloa* Herb. ex Lindl., $2n = 2x = 12$. Mediante citometría de flujo en tejidos foliares se confirmó el nivel de ploidía diploide en individuos de *Hippeastrum reticulatum* (L'Hér.) Herb ($2n = 2x = 22$) y tetraploide en *Habranthus brachyandrus* ($2n = 4x = 24$). La fertilidad analizada por la viabilidad de polen y producción media de semillas fue de 79% y 20 semillas por cápsula en *Hippeastrum puniceum*, 96% y 12 semillas/cápsula en *H. vittatum*, 83% y 43,75 semillas/cápsula en *Z. mesochloa* y 65,25 semillas/ cápsula en *Habranthus brachyandrus*. Los aportes sobre fertilidad, números cromosómicos y nivel de ploidía de *Habranthus brachyandrus*, *H. tubispathus*, *Hippeastrum vittatum* y *H. reticulatum* son primicia para Paraguay.

Palabras claves: Citometría de flujo, cromosomas, fitorecursos, Hippeastreae, plantas bulbosas

Ploidy levels in native and cultivated plants of the Amaryllidaceae family from Paraguay. The Hippeastreae tribe is taxonomically complex, karyologically variable, and phytochemically and ornamentally important, and its center of distribution is located in subtropical South America. Little cytological and reproductive information on this tribe is available on native material from Paraguay. In order to contribute to the characterization of native Paraguayan plant resources of this tribe, the ploidy level

has been determined using cytogenetic techniques, flow cytometry, and fertility reproductive characterization. Individuals from natural populations and cultivated materials from the Central Department, were analyzed during 2019-2022. The following chromosome numbers were found: *Habranthus brachyandrus* (Baker) Sealy, $2n = 4x = 24$; *Habranthus tubispathus* (L'Hér.) Traub, $2n = 4x = 24$; *Hippeastrum puniceum* (Lam.) Voss, $2n = 2x = 22$; *H. vittatum* (L'Her.) Herb., $2n = 4x = 44$; and from *Z. mesochloa* Herb. ex Lindl., $2n = 2x = 12$. By histo-foliar flow cytometry the diploid ploidy level of individuals of *Hippeastrum reticulatum* (L'Hér.) Herb and tetraploid of *Habranthus brachyandrus* were confirmed. Fertility analyzed as pollen viability and mean seed production per capsule was 79% and 20 seeds/capsule in *Hippeastrum puniceum*, 96% and 12 seeds/capsule in *H. vittatum*, 83% and 43.75 seeds/capsule in *Z. mesochloa*, and 65.25 seeds/capsule in *H. brachyandrus*. The contributions on fertility, chromosome numbers and ploidy level of *Habranthus brachyandrus*, *H. tubispathus*, *Hippeastrum vittatum* and *H. reticulatum* are new records for Paraguay.

Keywords: bulb plants, chromosomes, flow cytometry, Hippeastreae, plant resource

INTRODUCCIÓN

Amaryllidaceae es una familia de plantas bulbosas monocotiledóneas ampliamente distribuidas en zonas tropicales y subtropicales, cuyo centro de diversidad se encuentra en el hemisferio Sur, especialmente en América del Sur y en el sur de África (Meerow y Snijman, 1998). La familia está compuesta por aproximadamente 850 especies agrupadas en 59 géneros. En Sudamérica, las especies se reúnen filogenéticamente en dos clados, Andino e Hippeastroide (Meerow et al., 2000; APG III, 2009). El primero tiene un importante centro de diversificación en el centro de Chile y oeste de la Argentina andina, mientras que el segundo lo tiene al este de Brasil y noreste de Argentina (Zuloaga et al., 2019). El clado Hippeastroide incluye a la tribu Hippeastreae, ampliamente distribuida en Sudamérica con 11 géneros y 221 especies, que se caracterizan por poseer flores vistosas hermafroditas actinomorfas y cigomorfas con 6 tépalos de colores blanco, amarillo, púrpura o rojo, estambres declinados libres, estigmas capitados, trilobados o trifidos, ovario ínfero y fruto tipo cápsula loculicida (Meerow y Snijman, 1998; Hurrell, 2009; García et al., 2019). Son especies adaptadas a diversos ambientes y condiciones tanto de suelos como regímenes hídricos, aumentando así su interés

agronómico (Honfi y Daviña, 2013, 2015; Fernández, 2020).

Las cualidades estéticas de la corola posicionan a varios cultivares e híbridos de las amarilidáceas en el mercado comercial internacional, por su uso ornamental como flores de jardín (Tapia-Campos et al., 2012). Sumado al interés horticultural, las especies de este grupo son de especial importancia farmacológica por la producción de alcaloides específicos. Entre los más importantes se destaca la galantamina y otros inhibidores de la acetilcolinesterasa, que son utilizados para tratamientos de la enfermedad de Alzheimer (Berkov et al., 2020).

Las investigaciones referentes a la biología reproductiva en Amaryllidaceae sudamericanas son limitadas a pocas especies, con un gran porcentaje de sistemas genéticos que no han sido caracterizados. Las fenofases florales suelen ser estivales con estrecha relación con los regímenes de lluvias (Damián Domínguez et al., 2009). El modo de reproducción ocurre mediante semillas (de origen sexual como por apomixis), y por propagación vegetativa a partir de la producción de bulbillos hijos (Rodríguez Mata et al., 2018; Rodríguez Mata, 2022; Gianini Aquino, 2023). Las cápsulas producen semillas dorsiventralmente aplanadas, castaños oscuro a negruzcas, con alto poder germinativo y son fotoblásticas neutras

(Merrow, 1989; Echeverría y Alonso, 2010).

Cromosómicamente es una familia diversa, con especies diploides y poliploides. La poliploidía es un fenómeno frecuente en Amaryllidaceae y la variación en la constitución del cariotipo entre especies relacionadas no es una regla general (Arroyo, 1982; Daviña, 2001). Existen géneros donde la condición cromosómica frecuente en la naturaleza es la de un cariotipo conservado, como es el caso de especies de *Hippeastrum*, cuyo número básico es $x = 11$ y generalmente diploides (Hunziker y Cocucci, 1959; Daviña, 2001; Poggio et al., 2014). Contrariamente, *Habranthus* es un género polibásico con $x = 6$ como número básico de mayor frecuencia, con presencia de especies diploides, poliploides y aneuploides que presentan una variedad de fórmulas cariotípicas (Schnack y Covas, 1947; Darlington y Wylie, 1955; Naranjo, 1969; Daviña, 2001; Daviña y Honfi, 2018; Gianini Aquino et al., 2020; Rodríguez Mata et al., 2022). Por su parte, en *Zephyranthes Herb.* existen tres números básicos, $x = 5, 6$ y 7 con un gran porcentaje de especies poliploides (Darlington y Wylie, 1955; Flory, 1968; Greizerstein y Naranjo, 1987; Daviña y Fernández, 1989; Daviña, 2001; Felix et al., 2011; Daviña et al., 2019).

En la actualidad, en base a los herbarios que documentan la flora de Paraguay, se han registrado 22 especies de 6 géneros de Amaryllidaceae. Entre ellas, 11 especies pertenecen a *Zephyranthes Herb.*, 4 a *Hippeastrum Herb.*, 2 a *Habranthus Herb.*, 1 a *Amaryllis L.*, 2 a *Crinum L.* y 2 a *Nothoscordum Kunth* (Tabla 1). Estas especies habitan en el Cerrado, Chaco húmedo y el Bosque Atlántico en Paraguay (Ramella y Perret, 2008; Zuloaga et al., 2019). Citogenéticamente se registraron algunos conteos cromosómicos para especies colectadas en territorio paraguayo, tales como, *Hippeastrum puniceum* con $2n = 2x = 22$, *H. rutilum* con $2n = 4x = 44$ (Cerutti et al., 2011); *Zephyranthes mesochloa* con $2n = 2x = 12$ y *Z. seubertii* H. H. Hume con $2n = 6x = 30$ (Daviña et al.; 2001).

En el marco de lo expuesto, y a la luz de la escasa información sobre Amaryllidaceae de Paraguay, este trabajo tiene como objetivo investigar las características citogenéticas y de fertilidad de algunas de sus especies nativas y cultivadas con el fin de contribuir al conocimiento de las mismas y generar herramientas para su aprovechamiento sostenible y conservación.

MATERIAL MÉTODOS

Material examinado

Habranthus brachyandrus (Baker) Sealy. Paraguay, Departamento Central, Itá, $25^{\circ}0'12''9''S$ $57^{\circ}1'03''9''W$, 02/09/2021, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 103 (FACEN) (Figura 1A). Asunción, Av. Eusebio Ayala km 4,5, $25^{\circ}18'34.5''S$ $57^{\circ}35'38.6''W$, 14/11/2021, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 112 (FACEN).

Habranthus tubispathus (L'Hér.) Traub. Paraguay, Departamento Central, San Lorenzo, $25^{\circ}20,20'0''S$ $57^{\circ}31,223'0''W$, 11/03/2019, Honfi A.I. 2500 (MNES) (Figura 1B).

Hippeastrum puniceum (Lam.) Voss. Paraguay, Departamento Central, Itá, $25^{\circ}30'47.0''S$ $57^{\circ}21'35.8''W$, 23/09/2020, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 104 (FACEN) (Figura 1C). Departamento San Pedro, Aguapey, $24^{\circ}31'04.3''S$ $56^{\circ}45'57.4''W$, 22/12/2019, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 105 (FACEN) (Figura 1D).

Hippeastrum reticulatum Herb. Paraguay, Departamento Central, Limpio, $25^{\circ}08'55.0''S$ $57^{\circ}27'37.2''W$, 13/05/2020, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 113 (FACEN).

Hippeastrum vitatum (L'Her.) Herb. Paraguay, Departamento Central, Itá, $25^{\circ}1'11''1''S$ $57^{\circ}1'47''1''W$, 19/09/2021, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E. 106 (FACEN) (Figura 1E).

Zephyranthes mesochloa Herb. ex Lindl. Paraguay, Asunción, Parque Metropolitano Guasú, $25^{\circ}6'07''3''S$ $57^{\circ}2'45''8''W$, 14/03/2021, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 108 (FACEN) (Figura 1F). Departamento Central, Aregua, $25^{\circ}9'37''3''S$ $57^{\circ}1'42''1''W$, 07/03/2022, Perei-

TABLA 1. Especies de Amaryllidaceae registradas en Paraguay

Especie	Departamento	Fuente bibliográfica	Ejemplar de referencia; Colector, N° de colecta y herbario
1. <i>Amaryllis belladonna</i> L.	Alto Paraguay	Mereles y Pérez de Molas, 2004. Vogt, 2011	**Mereles, F., Pérez de Molas, L., Elizeche, K & Sede, S 8945 FCQ
2. <i>Habranthus brachyandrus</i> (Baker) Sealy	Amambay, Cordillera, Alto Paraguay, Concepción, Canindeyú, San Pedro, Presidente Hayes	Ramella y Perret, 2008 Zuloaga <i>et al.</i> , 2019 Davíña <i>et al.</i> , 2001	**Basualdo I. 2837 (FCQ) **Degen I. 2345 (FCQ) **Rojas, T. 2017 (SI)
3. <i>Habranthus tubispithus</i> (L'Her.) Traub	Cordillera, Boquerón, Presidente Hayes	Zuloaga <i>et al.</i> , 2019	**Degen, R y Mereles F. 3082 (FCQ)
4. <i>Zephyranthes mesochloa</i> Lindl.	Central, Paraguari, Amambay, Cordillera, Caazapa, Alto Paraguay, San Pedro, Canindeyú, Concepción, Pte. Hayes, Itapúa	Davíña <i>et al.</i> , 2001 Zuloaga <i>et al.</i> , 2019	**Degen R. 2349 (FCQ) **Mereles F. 4404 (FCQ) **Elizeche A. 2 (FCQ) **Basualdo I. 5089 (FCQ) **Mereles F. & Degen R. 6204 (FCQ) *Honfi, A. I. 1115 (MINES) **Hassker, E. 4112 (BM) **Morong, T. 254 (MO) **Woolston, A. L. 387 (SI) *Davíña J. R. 81 (CTES) **Jørgensen, P. 3877 (SI)
5. <i>Zephyranthes seubertii</i> Hume	Itapúa, Paraguari	Davíña, 2001; Zuloaga <i>et al.</i> , 2019	**Ferrucci, M. S. 1533 (CTES) **Degen, R. 3082 (FCQ)
6. <i>Zephyranthes amabaica</i> Ravenna	Amambay	Zuloaga <i>et al.</i> , 2019	
7. <i>Zephyranthes aurata</i> (Ravenna) Nic. García y Meerow	Presidente Hayes	Zuloaga <i>et al.</i> , 2019	
8. <i>Zephyranthes bifida</i> (Herb.) Nic. García & Meerow (= <i>Rhodopiata bifida</i>)	Itapúa	Zuloaga <i>et al.</i> , 2019	**Schimini, A. 27677 (CTES)
9. <i>Zephyranthes caaguazuensis</i> (Ravenna) Nic. García & Meerow	Caaguazú, Concepción	Zuloaga <i>et al.</i> , 2019	**Kiesling 9719 (PY, SI) **Caballero Mármori, G. s/n (CTES)-

TABLA I. Continuación

Especie	Departamento	Fuente bibliográfica	Ejemplar de referencia; Colector, N° de colecta y herbario
10. <i>Zephyranthes leonensis</i> (Ravenna) S.C. Arroyo	Alto Paraguay	Zuloaga et al., 2019	**Mereles, F. 7397 (FCQ)
11. <i>Zephyranthes chacoensis</i> (Ravenna) S.C. Arroyo	Presidente Hayes	Degen, R. y Mereles, F. 1996; Zuloaga et al., 2019	**Mereles, F. 1973 (CTES, FCQ)
12. <i>Zephyranthes pedunculosa</i> (Herb.) Nic. García y S.C. Arroyo	Guaira Misiones	Zuloaga et al., 2019	**Jørgensen 3867 (BA, SI)
13. <i>Zephyranthes philadelphica</i> (Ravenna) Nic. García & Meerow	Alto Paraguay	Zuloaga et al., 2019	**Arenas, P. 3310 (FCQ)
14. <i>Zephyranthes versicolor</i> (Herb.) Baker	Alto Paraguay	Zuloaga et al., 2019	** Hassler, E. 2497 (LIL, MO)
15. <i>Hippeastrum rutilum</i> Herb.	Concepción, Canindeyú, Amambay, Itapúa, Paraguari, Presidente Hayes	Cerutti et al., 2011	*Cerutti, J. C. 92 (MNES) * Daviña J. R. 586 (MNES)
16. <i>Hippeastrum puniceum</i> (Lam.) Voss.	Presidente Hayes	Cerutti et al., 2011	*Daviña, J. R. 607 (MNES)
17. <i>Hippeastrum angustifolium</i> Pax	Paraguari, Cordillera, Central Amambay, San Pedro, Alto Paraná, Caaguazú	Kubota et al., 2021 Zuloaga et al., 2019	** Hassler, E. 4591 (K, BM)**Hassler, E. y Rojas T. 10881 (G) **Woolston 732 (U) **Kubota, V., Lombardo L., Martinez V., Guerrero D., 241 (FCQ) **Hassler, E. 4669 (G)
18. <i>Hippeastrum vitatum</i> (L'Hér.) Herb.	Alto Paraná, Canindeyú, Guaira	Zuloaga et al., 2019	**Mereles, F. 3658 (FCQ)
19. <i>Crinum americanum</i> L.	Presidente Hayes	Dutilh, J. H. A. 2005 Zuloaga et al., 2019	**Zardini, E. M. 19096 (AS, MO)
20. <i>Crinum erubescens</i> Aiton	Central	Zuloaga et al., 2019	**Osten, O. 8015 (MVM)
21. <i>Nothoscordium gracile</i> (Dryand. ex Aiton) Stearn var. <i>macrostemon</i> (Kunth) Guagl.	Itapúa	Zuloaga et al., 2019	**Hassler D. E. 122 (SI)
22. <i>Nothoscordium ipacaranum</i> Ravenna	Cordillera	Zuloaga et al., 2019	

FCQ: Facultad de Ciencias Químicas, SI: Herbario del Instituto Darwinio, MO: Missouri Botanical Garden, BM: The Natural History Museum, CTES: Instituto de Botánica del Nordeste, MNES: Herbario de la Universidad Nacional de Misiones, BA: Herbario del Museo Argentino de Historia Natural, LIL: Herbario Miguel Lillo, MVM: Museo Nacional de Historia Natural, G: Herbario del Jardín Botánico de la Ciudad de Ginebra. *Material herborizado con conteo de cromosomas. **Material herborizado sin conteo de cromosomas

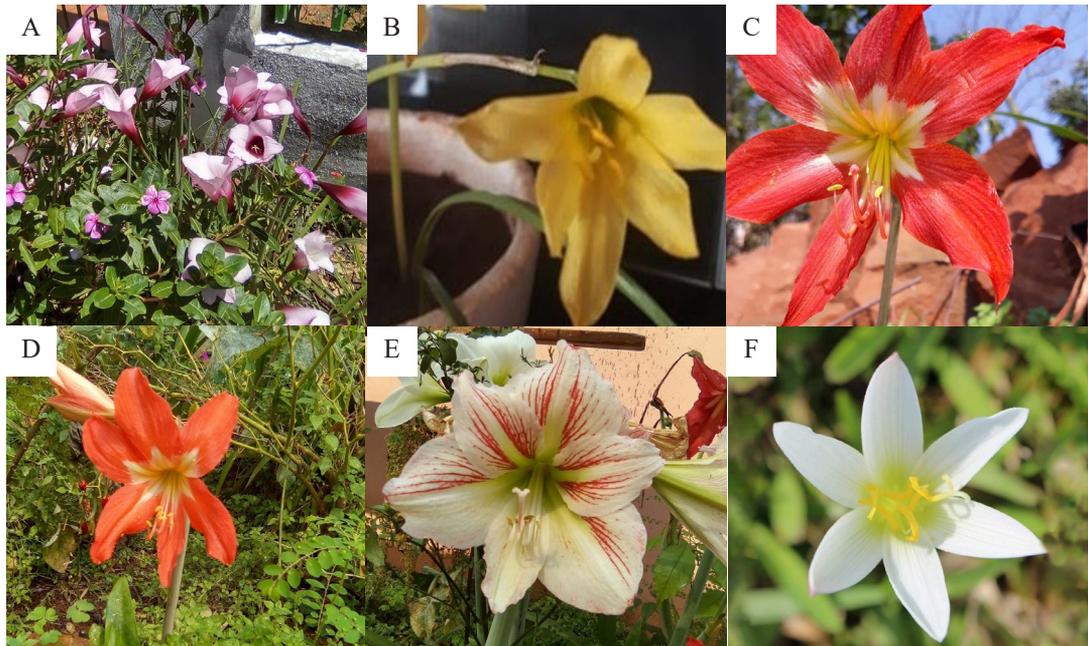


Figura 1. Flores de especies de Amaryllidaceae. A) *Habranthus brachyandrus*. B) *Habranthus tubispatus*. C) *Hippeastrum puniceum*. D) *Hippeastrum puniceum*. E) *Hippeastrum vittatum*. F) *Zephyranthes mesochloa*. Nótese la variación en la morfología y coloración de las corolas

ra Süşner C.D. e Irala D.E 109 (FACEN). Asunción, Asunción, Costanera Norte, 25°6'13"5"S 57°6'48"7"W, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 111 (FACEN). Itaguá, 25°0'47"6"S 57°0'22"2"W, 07/03/2022, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 110(FACEN). San Lorenzo, Campus Universitario FACEN-UNA, 25°0'12"3"S 57°1'13"3"W, 19/02/2021, Pereira Süşner C.D. e Irala D.E 107 (FACEN).

Estudios Citogenéticos

Los estudios cromosómicos se realizaron en el laboratorio de Citogenética Vegetal del Instituto de Biología Subtropical (IBS, UNaM- CO-NICET), en la ciudad de Posadas, Misiones, Argentina dentro del marco del Convenio de Cooperación Científica FACEN UNA-PEFGyV FCEQyN UNaM. Se realizaron preparados a partir de ápices de raicillas siguiendo la metodología de Daviña (2001). Las raicillas fueron pretratadas

con solución 8-oxiquinoleína 0,002 M durante 8 h a temperatura ambiente y luego fijada en etanol absoluto-ácido acético glacial en proporción 3:1 v/v y conservadas a 4°C hasta su utilización. Se aplicó la técnica de Feulgen donde las raicillas se hidrolizaron con HCl 1N por 10 minutos a 60°C y se colorearon con Reactivo de Schiff y se aumentó el contraste con orceína acética 2%. Los preparados fueron sellados con solución de goma. Las preparaciones cromosómicas fueron observadas con un microscopio Leica DMS provisto con cámara de video C 350 FX. Las microfotografías fueron mejoradas con el software Photoshop CS4 (Adobe).

Determinación de contenido de ADN relativo por Citometría de flujo

Las plantas con número cromosómico conocido provenientes de la colección de germoplasma del Programa de Estudios Florísticos y

Genética Vegetal (IBS – CONICET – UNaM), se usaron de estándar de referencia para analizar ploidía en las progenies con citometría de flujo. Se determinó el contenido relativo de ADN en tejidos foliares con un citómetro de flujo marca Partec Modelo CyFlow Ploidy Analyzer – UV + laser verde del IBS – CONICET- UNaM, empleando el protocolo de Siena et al. (2008). Se utilizó 0,5 ml de Tris-MgCl₂ Otto I *buffer* de extracción y 1,5 ml de Otto II *buffer* de tinción 4µg/ml DAPI (0,6-diamino-2-fenilindol para la coloración de los núcleos celulares. El nivel de ploidía se determinó comparando los histogramas de fluorescencia del estándar de referencia y la muestra, analizando al menos 3000 partículas y tres repeticiones/muestra. El análisis de los histogramas se realizó con el programa FloMax 2.4 de Sysmex-Partec.

Viabilidad del polen

Las anteras fueron extraídas de flores al momento de la antesis y se conservaron a -20°C en recipientes herméticos. Para estimar el porcentaje de polen viable se colorearon los granos de polen con carmín - glicerina (1:1, v/v) durante 24hs. Se consideraron como viables los granos de polen totalmente coloreados contando al menos 1000 granos por accesión o especie.

Producción y germinación de semillas

Se cosecharon semillas en campo y en plantas en cultivo. Para ello, los frutos fueron trillados a mano y las semillas conservadas a 4°C. Se contabilizaron y separaron las semillas desarrolladas de las vainas en cada cápsula. Se calculó la fertilidad como porcentaje de semillas producidas por cápsula.

La germinación de semillas fue analizada en ensayos de laboratorio. Se sembraron semillas en cajas de Petri con papel libre de ácido humedecido con agua destilada, con un fotoperiodo de 8 horas de luz y con temperatura de 25/35 °C durante 30 días. En cada especie se registró el primer día de inicio de la germinación considerando

germinadas aquella con radícula emergente. Se registró el porcentaje de semillas germinadas por muestra como indicador de calidad de semilla.

RESULTADOS

Niveles de ploidía

Habranthus

Se analizaron dos especies de este género. Tres individuos de *H. brachyandrus* (Pereira Süssner e Irala 103), presentaron un complemento cromosómico tetraploide con $2n = 4x = 24$ (Tabla 2, Figura 2. A). El nivel de ploidía tetraploide también fue confirmado mediante el contenido relativo de ADN por citometría de flujo para esta especie (Tabla 3, Figura 3) en todos los individuos analizados. Por su parte, *H. tubispachus* (Honfi 2500) también resultó tetraploide con $2n = 4x = 24$ cromosomas (Tabla 2, Figura 2 F).

Hippeastrum

Los individuos de ambas procedencias de *H. puniceum* (Pereira Süssner e Irala 104 y 105), presentaron un complemento cromosómico diploide con $2n = 2x = 22$ cromosomas (Tabla 2, Figura 2. B y E). Por su parte, *H. vittatum* (Pereira Süssner e Irala 106) resultó tetraploide con células somáticas con $2n = 4x = 44$ cromosomas (Tabla 2, Figura 2.C). Finalmente, en *H. reticulatum* (Pereira Süssner e Irala 113) el análisis por citometría de flujo indicó que posee contenido relativo de ADN de nivel diploide (Tabla 3, Figura 3).

Zephyranthes

Se analizaron individuos provenientes de cinco accesiones de *Z. mesochloa* (Pereira Süssner e Irala 107, 108, 109, 110 y 111) y todos resultaron diploides con $2n = 2x = 12$ (Tabla 2, Figura 2D).

Ambas especies de *Habranthus* resultaron tetraploides y uniploides con número básico múltiplo de $x = 6$. Las especies del género *Hippeastrum* han sido tanto diploides como poliploides

TABLA 2. Niveles de ploidía en amarillidáceas del departamento central del Paraguay

Especie	Procedencia	Nivel de ploidía	Legajo
<i>Habranthus brachyandrus</i> (Baker) Sealy	Paraguay, Ruta 1, Itá, Dto. Central, 25°01'29"S 57°01'03"9"W	2n = 4x = 24	*Pereira Sishner e Irala 103
	Paraguay, Asunción, Ruta 1 km 4, 5 25°18'34,5"S 57°55'38,6"W	2n = 4x = 24	**Pereira Sishner e Irala 112
<i>Habranthus tubispathus</i> (L'Her.) Traub	Paraguay, Dpto. Central, San Lorenzo, Campus Universitario FACEN, UNA, 25°20,20'0"S 57°31,223'0"W.	2n = 4x = 24	*Honfi 2500
<i>Hippeastrum puniceum</i> (Lam.) Voss	Paraguay, Ruta 1, Itá, Dto. Central, 25°04'7"0"S 57°13'5"8"W	2n = 2x = 22	*Pereira Sishner e Irala 104
	Paraguay, Dto. San Pedro, Ciudad de Itá, 24°31'04,3"S 56°45'57,4"W	2n = 2x = 22	*Pereira Sishner e Irala 105
<i>Hippeastrum reticulatum</i> (L'Her.) Herb.	Paraguay, Dpto. Central, Limpio, 25°08'55,0"S 57°27'37,2"W	2n = 2x = 22	*Pereira Sishner e Irala 113
<i>Hippeastrum vittatum</i> (L'Her.) Herb.	Paraguay, Ruta 1, Itá, Dto. Central, 25°1'11"1"S 57°14'7"1"W	2n = 4x = 44	**Pereira Sishner e Irala 106
<i>Z. mesochloa</i> Herb. ex Lindl.	Paraguay, Dpto. Central, San Lorenzo, Campus Universitario FACEN, UNA, 25°01'29"3"S 57°01'13"3"W	2n = 2x = 12	*Pereira Sishner e Irala 107
	Paraguay, Dpto. Central, Asunción, Parque Metropolitano Guasu, 25°06'07"3"S 57°02'45"8"W	2n = 2x = 12	*Pereira Sishner e Irala 108
Paraguay, Dpto. Central, Itauguá, 25°09'37"3"S 57°01'42"1"W	2n = 2x = 12	*Pereira Sishner e Irala 109	
	Paraguay, Dpto. Central, Itauguá, 25°04'47"6"S 57°02'22"2"W	2n = 2x = 12	*Pereira Sishner e Irala 110
	Paraguay, Dpto. Central, Asunción, Costanera Norte, 25°06'13"5"S 57°06'48"7"W	2n = 2x = 12	*Pereira Sishner e Irala 111

*Determinación del nivel de ploidía a partir de conteos cromosómicos. **Determinación del nivel de ploidía a partir de citometría de flujo

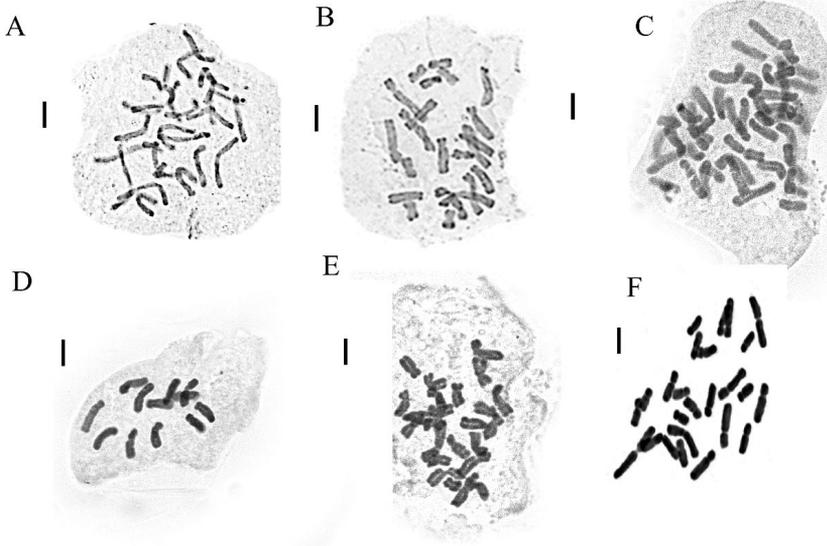


Figura 2. Cromosomas somáticos, metafases mitóticas de: A) *Habranthus brachyandrus* $2n = 4x = 24$ (Pereira Süshner e Irala 103). B) *Hippeastrum puniceum* $2n = 2x = 22$ (Pereira Süshner e Irala 105). C) *Hippeastrum vittatum* $2n = 4x = 44$ (Pereira Süshner e Irala 106). D) *Z. mesochloa* $2n = 2x = 12$ (Pereira Süshner e Irala 108). E) *Hippeastrum puniceum* $2n = 2x = 22$ (Pereira Süshner e Irala 104). F) *Habranthus tubispathus* $2n = 4x = 24$ (Honfi 2500). La barra representa $10\mu\text{m}$

con guarismos múltiplos de $x = 11$. En ninguna de las especies se ha detectado variaciones intra-específicas referentes al nivel de ploidía.

Viabilidad del polen

En general, en todas las especies la morfología del polen resultó homogénea sin presentación de deformidades (Figura 4). De las dos muestras analizadas de *Hippeastrum puniceum*, los individuos colectados en San Pedro (Pereira Süshner e Irala 105) alcanzaron una viabilidad del 84%, mientras que los provenientes de Itá (Pereira Süshner e Irala 104) presentaron un menor porcentaje, con 79% de polen viable, y es el menor valor encontrado entre las especies estudiadas. Por su parte, *H. vittatum* (Pereira Süshner e Irala 106) resultó la especie con mayor viabilidad polínica, alcanzando valores del 96%. Por último, ambas muestras analizadas de *Z. mesochloa* (Pereira Süshner e Irala 107 y 108) obtuvieron 83% de polen viable.

Fertilidad de semillas

Se contabilizaron un promedio de 65,25 semillas por cápsula en *Habranthus brachyandrus* (Pereira Süshner e Irala 103), las cuales comenzaron su proceso de germinación a los 6 días de la siembra (Tabla 3, Figura 5). En las especies de *Hippeastrum*, la producción de semilla promedio por cápsula fue de 18 y 20 semillas para *Hippeastrum puniceum* (Pereira Süshner e Irala 104 y 105, respectivamente), con un inicio de la germinación en ambas accesiones a los 21 días post-siembra, y fue la especie más tardía en el estudio. En *Hippeastrum vittatum* (Pereira Süshner e Irala 106) la producción fue de 12 semillas viables por cápsula las cuales comenzaron a germinar a los 11 días de sembradas (Tabla 3). En *Zephyranthes mesochloa*, los valores de producción de semillas y de germinación fueron variables entre las muestras analizadas. Particularmente, la accesión proveniente del Parque Guazú

TABLA 3. Producción de semillas y días de inicio de la germinación en especies de *Habranthus*, *Hippeastrum* y *Zephyranthes* de Paraguay

Especie	Accesión	Promedio de semilla/capsula	Día de inicio promedio de la germinación	Fechas de colecta
<i>Habranthus brachyandrus</i> (Baker) Sealy	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 103	65,25	6	10/11/2020; 28/03/2022; 23/03/2022
<i>Hippeastrum puniceum</i> (Lam.) Voss	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 104	18	21	05/10/2020
	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 105	20	21	23/09/2020
<i>Hippeastrum vittatum</i> (L'Her.) Herb.	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 106	12	11	28/10/2020
<i>Z. mesochloa</i> Herb. ex Lindl.	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 107	31,5	4	30/11/2020
	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 108	43,75	10	27/11/2020; 05/12/2020
	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 109	19	10	02/02/2022
	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 110	22	6	23/03/2022
	<i>Pereira Süshner e Irala</i> 111	39	4	19/02/2022; 12/02/2022

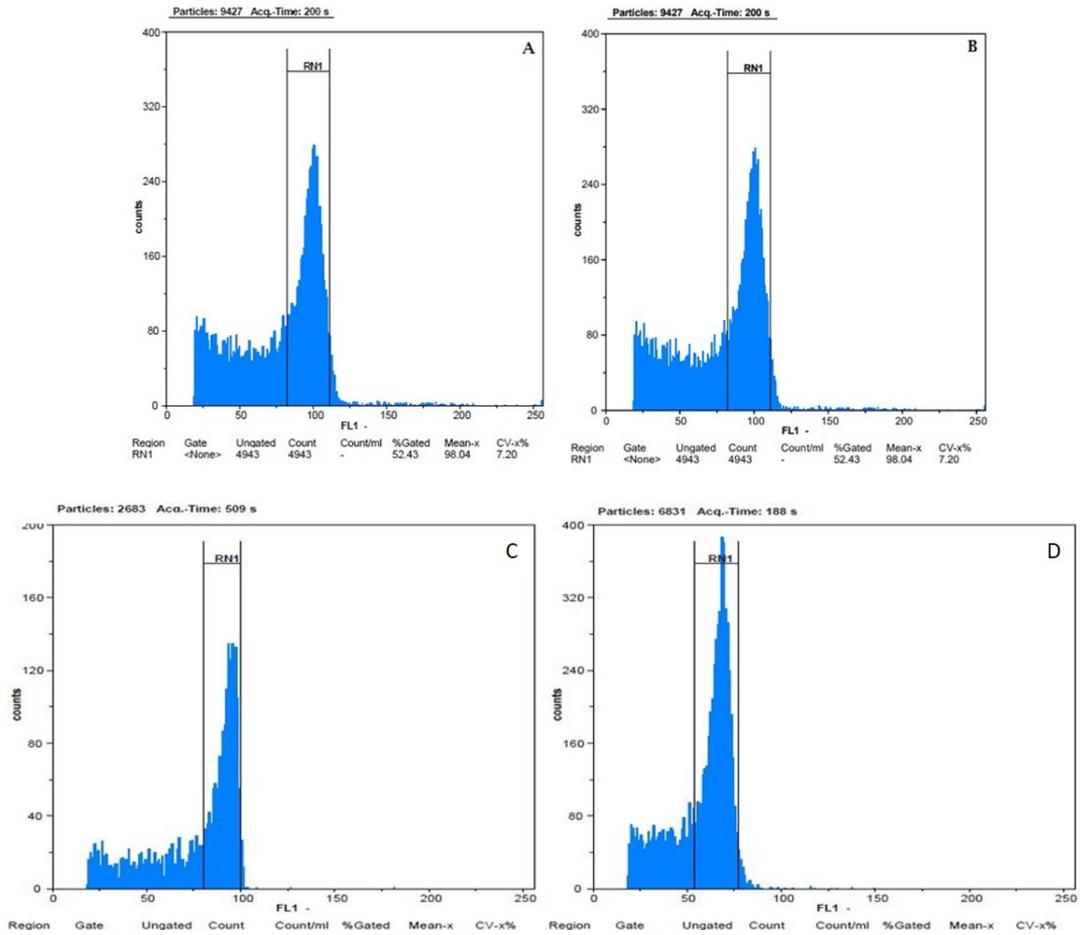


Figura 3. Histograma ilustrativo del contenido relativo de ADN obtenido por citometría de flujo para determinar el nivel de ploidía. A-B) *Habranthus brachyandrus*. A) Patrón del estándar de referencia (patrón) de *H. brachyandrus* con ploidía conocida ($2n = 4x = 24$). B) Histograma del contenido relativo de ADN del patrón y de la accesión *Pereira Süssner e Irala 112*. Nótese la existencia de un solo pico confirmando que ambas poseen la misma ploidía tetraploide. C-D) *Hippeastrum reticulatum*. C) Patrón de referencia de *H. reticulatum* con ploidía conocida ($2n = 2x = 22$). D) Histograma que representa el contenido relativo conjunto del patrón y de la accesión *Pereira Süssner e Irala 113*. Nótese la existencia de un solo pico confirmando que la accesión de *H. reticulatum* es diploide

Metropolitano (*Pereira Süssner e Irala 108*) resultó la de mayor producción de semillas, alcanzando un promedio de 43,75 semillas por cápsula. Contrariamente, *Z. mesochloa* proveniente de Areguá (*Pereira Süssner e Irala 109*) presentó la menor producción de semillas por cápsula, con un promedio de 19 semillas. Las semillas provenientes de San Lorenzo y la Costanera Norte de Asunción (*Pereira Süssner e Irala 107 y 111*, respectivamente), fueron las que obtuvieron la

más rápida germinación intraespecífica, iniciando al cuarto día post-siembra, independientemente de que presentaran una diferencia de dos años de cosecha al momento de la siembra.

DISCUSIÓN

Actualmente, la flora de Paraguay comprende un total de 22 especies de Amaryllidaceae pertenecientes a los géneros *Amaryllis*, *Habranthus*,

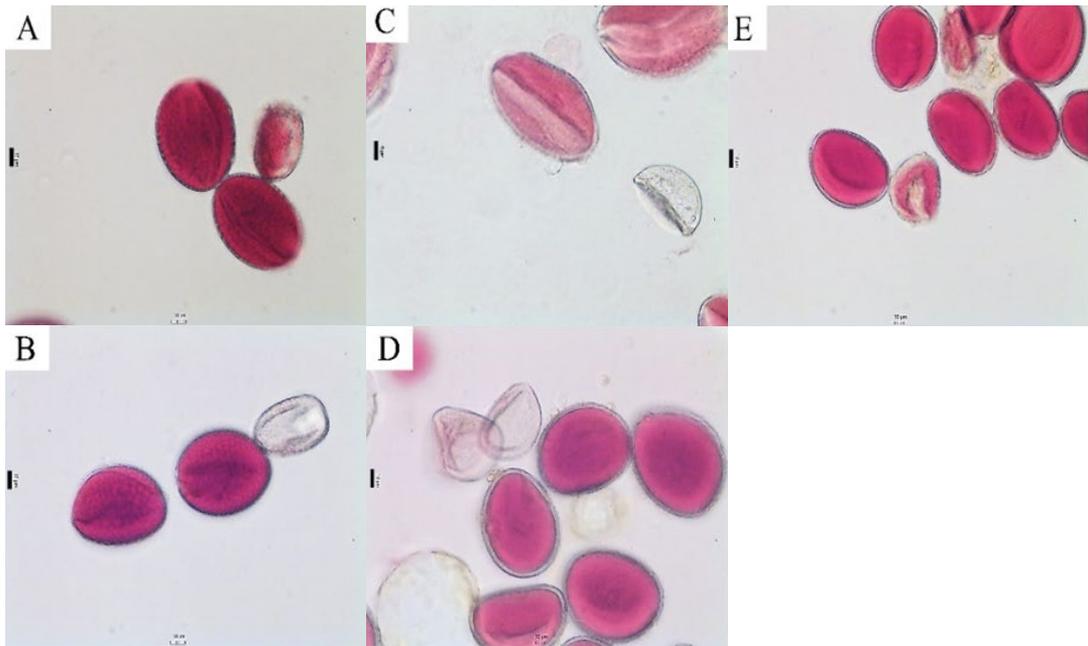


Figura 4. Granos de polen viables (coloreados) y no-viables (no-coloreados). A) *Hippeastrum puniceum* ($2n = 2x = 22$) accesión *Pereira Süshner e Irala* 105. B) *H. puniceum* ($2n = 2x = 22$) accesión *Pereira Süshner e Irala* 104. C) *H. vittatum* ($2n = 4x = 44$) accesión *Pereira Süshner e Irala* 106. D) *Zephyranthes mesochloa* ($2n = 2x = 12$) accesión *Pereira Süshner e Irala* 107. E) *Z. mesochloa* ($2n = 2x = 12$) accesión *Pereira Süshner e Irala* 108. La barra representa 10µm.

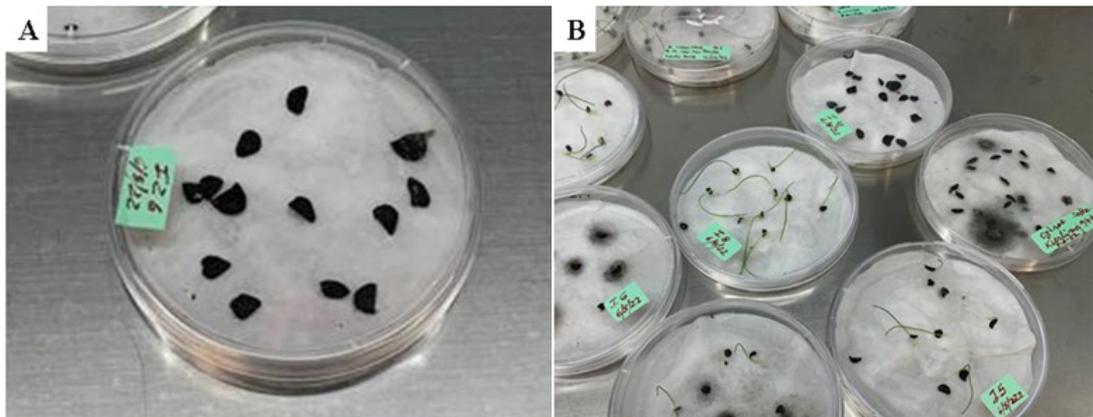


Figura 5. Detalle de ensayos de germinación de semillas de *Habranthus brachyandrus* A) Semillas al primer día post-siembra. B) Germinación de semillas luego de 15 días post-siembra

Zephyranthes, *Hippeastrum*, *Crinum* y *Nothoscordum* (Ramella y Perret, 2008; Zuloaga et al., 2019). A excepción del género *Nothoscordum*, que fue reportado únicamente en los Departamentos de Itapúa y Cordillera, varias especies de los demás géneros fueron registrados tanto en la

Región Oriental como en la Región Occidental de Paraguay. El territorio paraguayo se encuentra cerca de uno de los más importantes centros de diversificación de la tribu Hippeastreae que abarca el este de Brasil y el noroeste de Argentina (Meerow y Snijman, 1998; Arroyo-Leuenber-

ger y Dutilh, 2008). La distribución geográfica de los géneros estudiados en este trabajo abarcan principalmente localidades de Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina (Arroyo, 1990). Sin embargo, es notable la escasez de nuevos registros de colecta y la falta de datos en las colecciones antiguas de los diferentes herbarios, razón por la cual es necesario aumentar los esfuerzos de muestreo para un mejor conocimiento del estado actual de las poblaciones naturales de *Hippeastrum* (Kubota et al., 2021) y los demás géneros mencionados. En Paraguay encontramos predominantemente especies de los géneros *Zephyranthes*, *Habranthus* e *Hippeastrum*. Las especies de los géneros reportados tienen importancia de uso ornamental (Dutilh, 2005; Jitsuno et al., 2009; Ortiz et al., 2012), y estas cualidades las ubican como recursos con potencial para cultivo a diversas escalas de producción (Rodríguez Mata et al., 2018) y para la conservación de germoplasma.

Según Zuloaga et al. (2019), los niveles de ploidía identificados para 6 especies de Amaryllidaceae pertenecientes a 3 géneros representan el 27% del total de especies encontradas en Paraguay. Las especies e inclusive los géneros de Hippeastreae poseen características distintivas respecto a sus complementos cromosómicos. En general las especies de los géneros *Hippeastrum* poseen un número básico $x = 11$, mientras que en *Habranthus* y *Zephyranthes* el más frecuente es $x = 6$ (Daviña, 2001), hecho que también se ha observado en este trabajo. *Habranthus brachyandrus* es una especie que generalmente presenta citotipos tetraploides $2n = 4x = 24$ cromosomas (Flory, 1948; Flory y Flagg, 1958; Daviña, 2001; Felix et al., 2011; Daviña y Honfi., 2018; Nascimento et al., 2022, Rodríguez Mata et al., 2022). Asimismo, se han registrado en esta especie guarismos diploides, $2n = 2x = 12$ (Zemskova y Sveshnikova, 1999), presencia de cromosomas B (Felix et al., 2011, Nascimento et al; 2022) y un comportamiento meiótico regular con formación de 12 bivalentes, sugiriendo un origen alopoliploide (Daviña y Honfi., 2018). Por su par-

te, *H. tubispathus* es una especie poliploide con distintos niveles de ploidía, aunque el guarismo tetraploide con $2n = 4x = 24$ es el más frecuente en la naturaleza (Flory, 1948; Coe, 1954; Flory y Flagg, 1958; Tandon Meenakshi, 1965; Lakshmi, 1980; Joshi 1982; Zemskova y Sveshnikova 1999; Daviña y Honfi, 2018; Gianini Aquino et al., 2020; Gianini Aquino, 2023). Además, en esta especie se registraron aneuploidías y citotipos infrecuentes con $2n = 30$ (Naranjo, 1969), $2n = 36$ (Daviña y Honfi, 2018) y $2n = 48$ (Sveshnikova y Zemskova, 1988; Dash et al., 2020). Las procedencias de *H. tubispathus* de Paraguay concuerdan con los registros citológicos tetraploides previos de la especie.

Es sabido que el género *Hippeastrum* muestra una constancia cariotípica bimodal, donde se sugiere que existe una homeostasis interna que selecciona el tipo de organización del genoma en el que la bimodalidad se logra a través de una distribución particular de su fórmula cariotípica conservada por ortoselección cariotípica (Naranjo y Andrade, 1975; Daviña, 2001; Poggio et al., 2007; Navarro et al., 2015). El género *Hippeastrum* no muestra grandes diferencias en cuanto al número de cromosomas, aunque se han registrado diversos poliploides (Daviña, 2001). La fórmula cariotípica básica propuesta para el género se conserva en numerosas especies (Naranjo, 1974; Daviña, 2001) y solamente es variable en unas pocas (Cerutti et al., 2011). *Hippeastrum* es un género con la cualidad de la constancia y homogeneidad interespecífica de la fórmula básica del cariotipo y respecto del tamaño genómico (Navarro et al., 2015). Los individuos de *H. puniceum* estudiados fueron diploides coincidiendo con los antecedentes para la especie (Cerutti et al., 2011). Los reportes para *H. reticulatum* (Navarro et al., 2015) coinciden con las muestras diploides provenientes de Paraguay. *Hippeastrum vittatum*, cuyo ejemplar fue colectado en un vivero comercial, presentó células somáticas con $2n = 4x = 44$, indicando que se trata de un individuo

tetraploide, guarismo que concuerda con los resultados ya observados por Zemskova y Sveshnikova (1999), pero difiere con los hallazgos de un citotipo triploide $2n = 33$ realizado por Daviña (2001).

El género *Zephyranthes* se caracteriza cromosómicamente por presentar especies diploides, poliploides, series poliploides intraespecíficas, complejos poliploides, aneuploidías y presencia de cromosomas B (Daviña, 2001). *Zephyranthes mesochloa* es una especie con variados guarismos cromosómicos, presentando diploides, aneuploides, poliploides y presencia de cromosomas B tanto en poblaciones naturales como en cultivo (Bhattacharyya, 1972; Greizerstein y Naranjo, 1987; Daviña, 2001). Este complejo poliploide ha presentado poblaciones naturales principalmente diploides con $2n = 2x = 12$ que coinciden con este trabajo y también poblaciones naturales tetraploides del complejo que se han reportado para el noreste de Argentina (Gianini Aquino, 2023) que no se encontraron en Paraguay. En este trabajo se ha detectado la condición uniploide respecto al citotipo diploide para todas las accesiones de Paraguay analizadas, sin presencia de aneuploides ni cromosomas B. La homogeneidad detectada a nivel intrapoblacional en *Z. mesochloa* separadas en al menos 5 km, podría explicarse por mecanismos de dispersión de semillas.

Reproductivamente, los géneros *Hippeastrum*, *Habranthus* y *Zephyranthes* desarrollan un sistema reproductivo mixto, con diversas combinaciones de polinización cruzada y autopolinización. Sin embargo, la eficiencia reproductiva es mayor en la polinización cruzada en la mayoría de las Amarilidáceas, por lo que especies tetraploides como *Hippeastrum vittatum* y *Habranthus brachyandrus* tienden a comportarse como autógeno facultativo (Rodríguez Mata, 2022). El sistema de cruzamiento de muchas Amarilidáceas implica anemocoria, entomofilia (Hurrell, 2009), autogamia y hasta xenogamia facultativa y en algunas especies, se detectó la existencia de un desarrollo de semillas limitado por polen

(Argueta Guzmán et al., 2013). Las especies estudiadas *Habranthus brachyandrus*, *Hippeastrum puniceum*, *H. vittatum* y *Zephyranthes mesochloa* son fértiles y producen un buen set de semillas en condiciones de polinización abierta que son de calidad. En *Habranthus brachyandrus* se observó una rápida germinación de las semillas en comparación con el resto de las especies estudiadas, coincidiendo con las observaciones de Rodríguez Mata (2022) sobre el poder germinativo de esta especie. Otras especies del género *Habranthus* han mostrado alta viabilidad y germinación de semillas, como ocurre en *H. gracilifolius* (Echeverría y Alonso, 2010). La germinación en *Zephyranthes mesochloa* indica que esta especie tiene la capacidad de germinar con temperaturas superiores a 25 °C, justo después de su dispersión y presenta una dormición parcial siempre que sea adecuada su conservación. Esta observación resulta de gran importancia ante las variaciones de temperaturas medias anuales por cambio climático ocurridas recientemente en el subtropical sudamericano, acompañada de sequías e incendios espontáneos. Además, el hecho que germine en poco tiempo da como resultado una rápida colonización del espacio, marcando un carácter ruderal con capacidad de ejercer un cierto grado de competencia interespecífica (Alaña Ogazón, 2016). Las semillas de *Habranthus brachyandrus* y de *Zephyranthes mesochloa* han germinado en promedio más rápido que las semillas de las demás especies analizadas; sin embargo, se han reportado otras especies del género *Zephyranthes* que pierden la viabilidad en poco tiempo (Rodríguez, 2016). El inicio de la germinación observada en *Hippeastrum puniceum* es parcialmente comparable a las observaciones de Heintze; (2014), quien estudió *Hippeastrum reticulatum* var. *striatifolium* (Herb.) Herb. con un tiempo de germinación promedio de alrededor de 30 días. Asimismo, Rodrigues et al. (2007) mencionan que las semillas de *H. stylosum* germinaron entre 19 y 23 días luego de la siembra. Cabe destacar que la germinación de las semillas de las

especies estudiadas de *Hippeastrum* fue posible aun luego de un periodo de 2 años de almacenamiento y el tiempo de germinación fue menor en comparación con otras especies del mismo género previamente estudiadas por Heintze (2014) y Rodrigues et al. (2007).

CONCLUSIONES

Las características citogenéticas de las especies de Amaryllidaceae nativas y cultivadas de Paraguay fueron analizadas mediante estudios cromosómicos de células en mitosis y contenido de ADN relativo por citometría de flujo, presentándose variedad de número cromosómico interespecífica, pero constancia intraespecífica. La información disponible sobre estos recursos genéticos fortalece las iniciativas para desarrollar estrategias de conservación de germoplasma y de uso agronómico como el cultivo de plantas con bulbos en Paraguay. También contribuyen a otros estudios de biología reproductiva y filogenéticos en curso. Resulta necesario realizar mayores esfuerzos para investigar el estado de conservación de las poblaciones silvestres de especies de esta familia.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal, Laboratorio de Citogenética Vegetal, FCEQyN, del Instituto de Biología Subtropical (IBS-CONICET-UNaM) Nodo Posadas de Misiones - Argentina, a los laboratorios de Botánica de la FACEN y FCQ de la Universidad Nacional de Asunción - Paraguay y a los curadores de los herbarios consultados, por la atención, la ayuda y la oportunidad de utilizar los materiales y equipamientos necesarios para desarrollar este trabajo. A la Mgter. Pereira Süşner C.D. por sus colaboraciones. Este trabajo ha sido financiado en parte por ANPCyT- [PICT 2016- 1637 de J.R.D y A.I.H; PICT RAICES 2017-4203 y PICT 2020-3783 de A.I.H.], Mary Sue Ittner Grant of

the Pacific Bulb Society (PBS) de ACGA y la Universidad Nacional de Misiones, Argentina [PI 16Q1240, PI 16Q1758]. ACGA, y A.I.H. pertenecen al CONICET, Argentina; OARM pertenece al INTA, Argentina.

APORTES DE LOS AUTORES

IDE desarrolló su tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, Mención Biodiversidad y Sistemática. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción (FACEN- UNA), Paraguay bajo la dirección de JRD y AIH, quienes realizaron el diseño y conducción de la investigación. Los tres primeros autores tienen contribución equivalente. ACGA y OARM participaron con IDE en el laboratorio, análisis y tratamiento de los datos. Todos los autores participaron en la redacción y revisaron la versión final del manuscrito.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alaña Ogazón, Á. (2016). Aspectos fenológicos, polinización y BVOC's en *Narcissus*. Casos de *Narcissus elegans* (Haworth) Spach y *N. obsoletus* (Haworth) Spach en Mallorca. [Tesis de grado bachiller en Biología, Universidad de las Islas Baleares], España.
- Andrade, J. P. (2007). Análise química e biológica em alcalóide do gênero *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). [MSc. Dissertação, Universidade Federal de Rio Grande do Sul, UFRGS Faculdade de Farmacia] hdl.handle.net/10183/12070.
- Angiosperm Phylogeny Group (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal*

- of the *Linnean Society* 161 (2), 105–121. doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x.
- Argueta Guzmán, M. P., Barrales Alcalá, D. A., Galicia Pérez, A., Golubov, J. y Mandujano, M. C. (2013). Sistema reproductivo y visitantes florales de *Zephyranthes carinata* Herb. (Asparagales: Amaryllidaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 58 (4), 100-117.
- Arroyo, S. (1982). The chromosomes of *Hippeastrum*, *Amaryllis* and *Phycella* (Amaryllidaceae). *Kew. Bull.* 7 (2), 211-216.
- Arroyo, S. C. (1990). *Habranthus* (Amaryllidaceae) en Argentina y Uruguay. *Parodiana* 6. 11-30.
- Arroyo-Leuenerberger, S. C., y Dutilh, J. (2008). Amaryllidaceae. *Catálogo de las Plantas Vasculares Del Cono Sur* 1, 203-226.
- Beltrão, G. T. A. y Guerra, M. (1990). Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco-III. *Ciência e Cultura* 42(10), 839-845.
- Berkov, S., E. Osorio, F. Viladomat & J. Bastida. (2020). Chemodiversity, chemotaxonomy and chemoecology of Amaryllidaceae alkaloids. *Alkaloids Chem. Biol.* 83, 113–185.
- Cerutti, J. C., Moscone, E. A., y Daviña J. R. (2011). Cantidad, distribución y composición de la heterocromatina constitutiva en especies del género *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae). *Journal of Basic and Applied Genetics* 17 (suppl.), 1-120.
- Coe, G. E. (1954). Chromosome numbers and morphology in *Habranthus* and *Zephyranthes*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 81 (2), 141-148. doi.org/10.2307/2481850.
- Damián-Domínguez, M. D. J. X., Cano-Santana, Z. y Castellanos-Vargas, I. (2009). Fenología reproductiva de *Habranthus concolor* y *H. aff. concolor* (Amaryllidaceae) y su relación con la lluvia. En: *Historia natural y ecología de poblaciones*. Ed. Biodiversidad Del Pedregal de San Ángel. México.
- Darlington, C. D., & Wylie, A. P. (1955). Chromosome Atlas of Flowering Plants. G. Allen & Unwind Ltd., London.
- Da Silva, A. F. S., De Andrade, J. P., Bevilacqua, L. R., De Souza, M. M., Izquierdo, I., HenriqueS, A. T. y Zuanazzi, J. Â. S. (2006). Efectos ansiolíticos, antidepresivos y anticonvulsivos del alcaloide montanina aislado de *Hippeastrum vittatum*. *Farmacología, Bioquímica y Comportamiento* 85 (1), 148-154.
- Dash, C. K., Rahman, M. O., & Sultana, S. S. (2020). Karyological Investigation on three *Zephyranthes* species and its taxonomic significance. *Cytologia*, 85 (2), 163-168. doi.org/10.1508/cytologia.85.163.
- Daviña, J. & Honfi, A. (2018). *Habranthus* (Amaryllidaceae). En: Marhold & Kuceera (eds.) IAPT chromosome data 28. *Taxon* 67 (6), 1235–1245 : (E1-E2). doi.org/10.12705/676.39.
- Daviña, J. R., A. Fernández & A. I. Honfi. (2019). Amaryllidaceae (*Zephyranthes*). In: Marhold, K. (ed.), IAPT/IOPB chromosome data 31. *Taxon*. 68 (6), E1 -E7. doi.org/10.1002/tax.12176.
- Daviña, J. R.; Honfi, A. I.; Diana, D. F.; Fernández, V.; Lirussi, I.; Rovira, A. & Molero, J. (2001). Chromosome studies on some plants from Paraguay. *Phyton* 50, 215-224.
- Daviña, J. R. (2001). Estudios citogenéticos en algunos géneros argentinos de Amaryllidaceae. Córdoba: [Tesis doctoral, Universidad Nacional de Córdoba], Argentina.
- Daviña, J. R. & Fernández, A. (1989). Karyotype and meiotic behaviour in *Zephyranthes* (Amaryllidaceae) from South America. *Cytologia* 54, 269-274.
- Degen, R. y Mereles, F. (1996). Check-List de las plantas colectadas en el Chaco boreal, Paraguay. *Rojasiana* 3(1), 1-175.
- Dinerstein, E.; Olson, D. M.; Graham, D. J.; Webster, A. L.; Primm, S. A.; Bookbinder, M. P. y Ledec, G. (1995). Una evaluación del estado de conservación de las ecoregiones terrestres de América latina y el Caribe. Washington D.C.: WWF - World Bank.
- Dutilh, J. H. A. (2005). Amaryllidaceae. En:

- Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Melhem, T.S., Martins, S.E., Kirizawa, M., Giuliatti, A.M. (EDS.) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 4, pp. 244-256.
- Echeverría, M. L. y Alonso, S. I. (2010). Germinación y crecimiento inicial de *Habranthus gracilifolius* y *Rhodophiala bifida*, amarilidáceas nativas con potencial ornamental. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 42(1), 23-37.
- Felix, W. J. P.; Felix, L. P.; Melo, N. F.; Oliveira, M. B. M.; Dutilh, J. H. A. & Carvalho, R. (2011). Karyotype variability in species of the genus *Zephyranthes* Herb. (Amaryllidaceae–Hippeastreae). *Plant Systematics and Evolution*. 294 (3-4), 263- 271.
- Fernández, A. (2020). Domesticación y pre-mejoramiento de Amarilidáceas nativas con potencial ornamental. [Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca]. Obtenido de repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/5683/FERNANDEZ%20A.C._TESIS.pdf?sequence=2&isAllowed=y.
- Flory, W. (1948). Chromosome studies, and their bearing on phylogeny, in the Amaryllidaceae. I *Habranthus*. *American Journal of Botany* 35, 791-792.
- Flory, W. S. (1968). Chromosome diversity in species and in hybrids, of Tribe Zephyrantheae. *The Nucleus* 11, 79-95.
- Flory, W. & Flagg, R. (1958). A cytological study of the genus *Habranthus*. *The Nucleus* 1 (2), 267-280.
- García, N.; Meerow, A. W.; Arroyo-Leuenberger, S.; Oliveira, R. S.; Dutilh, J. H.; Soltis, P. S. & Judd, W. S. (2019). Generic classification of Amaryllidaceae tribe Hippeastreae. *Taxon* 68(3), 481-498. doi:10.1002/tax.12062 10.1002/tax.12062.
- Gianini Aquino A. C. (2023). Niveles de ploidía y modos de reproducción en especies del género *Habranthus* Herb. (Amaryllidaceae). [Tesis doctoral. Universidad Nacional de Córdoba].
- Gianini Aquino A. C.; Daviña J. R. & A. I. Honfi. (2020). Amaryllidaceae, *Habranthus* species. En: Marhold & Kučera (eds), IAPT/IOPB chromosome data 33/7. *Taxon* 69 (6), E27-E29. doi.org/10.1002/tax.12414.
- Greizerstein, E. y Naranjo, C. (1987). Estudios cromosómicos en especies de *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). *Darwiniana* 29, 169-186.
- Heintze, W. (2014). *Propagação de Hippeastrum reticulatum* var. *striatifolium* (Herb.) Herb. [Tesis de Maestria. Universidade Federal do Rio Grande de Sul, UFRGS, Brasil]. hdl.handle.net/10183/108710.
- Honfi, A. I. y Daviña, J. R. (2013). Aportes al inventario de especies endémicas y raras de la flora de Misiones, Argentina. Actas Jornada Científico Tecnológicas de 40 aniversarios de la Universidad Nacional de Misiones, 1-6.
- Honfi, A. I. y Daviña, J. R. (2015). Flora de interés forrajero y ornamental de Campo San Juan, en Bauni V. & M. Hombert (Eds.). *Reserva Natural Campo San Juan* (1er edición, pp. 69-83). Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Fundación de Historia Natural Félix de Azara.
- Hunziker, A. T. y Cocucci, A. (1959). Estudios sobre Amaryllidaceae I. Una Nueva Especie de *Hippeastrum* del Centro de Argentina: *H. parodii* nov. sp. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias* (Córdoba). XLI (1), 5 -16.
- Hurrell, J.; Delucchi, G. y Correa, M. (2009). Flora Rioplatense. Sistemática, ecología y etnobotánica de las plantas vasculares Rioplatenses. *Parte 3 Monocotiledóneas*. (Volumen 4). Buenos Aires, Argentina: L. O. L. A. (Literatura de Latinoamérica).
- Jin, Z; Li, Z. & Huang, R. (2002). Muscarine, imidazole, oxazole, thiazole Amaryllidaceae and sceletium alkaloids. *Natural Products Report* 19, 454-476.
- Jitsuno, M.; Yokosuka, A.; Sakagami, H. & Mimiaki, Y. (2009). Chemical constituents of the bulbs of *Habranthus brachyandrus* and their cytotoxic activities. *Chemical and Phar-*

- maceutical Bulletin* 57(10), doi:10.1248/cpb.57.1153.
- Joshi, C. P. y Ranjekar, P. K. (1982). Visualización y distribución de heterocromatina en núcleos en interfase de varias especies de plantas según lo revelado por una nueva técnica de bandas de Giemsa. *Cytologia* 47, 471-480.
- Kubota, V. R.; Dutilh, J. H. A.; Vázquez, V. M. M.; Mazzacotte, L. E. L. y Alcaraz, D. E. G. (2021). Distribución y estado de conservación de *Hippeastrum angustifolium* Pax (Amaryllidaceae) en Paraguay Distribution and conservation status of *Hippeastrum angustifolium* Pax (Amaryllidaceae) in Paraguay. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay* 25 (1), 36-44.
- Lakshmi, N. (1980). Estudios citotaxonómicos en ocho géneros de Amaryllidaceae. *Cytologia* 45 (4), 663-673.
- Meerow, A. (1989). Systematics of the Amazon Lilies, Eucharis and Caliphuria (Amaryllidaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76(1), 136-220. doi.org/10.2307/2399347
- Meerow, A.; Guy, C.; Li, Q.B. & Yang, S.L. (2000). Phylogeny of the American Amaryllidaceae based on nrDNA ITS sequences. *Systematic Botany* 25 (4), 708-726. doi.org/10.2307/2666729.
- Meerow, A. & Snijman, D. (1998). Amaryllidaceae. Monocotyledons. Lilliana (except Orchidaceae). In Kubitzki, K. (ed.) *III Flowering Plants* (pp. 83-110).
- Meerow, A. & Snijman, D. (2006). The never-ending story: Multigene approaches to the phylogeny of Amaryllidaceae. *Aliso* 22, 355-366. 10.5642/aliso.20062201.29.
- Mereles Haydar, M.F. y Pérez De Molas, L. (2004). *Hippeastrum belladonna* L., Amaryllidaceae, nueva mención para la flora paraguaya. *Rojasiana* 6(1), 115-128.
- Naranjo, C. A. (1969). Cariotipo de nueve especies Argentina de *Rhodophiala*, *Hippeastrum*, *Zephyranthes* y *Habranthus* (Amaryllidaceae). *Kurtziana* 5, 67-87.
- Naranjo, C. A. (1974). Karyotypes of four Argentine species of *Habranthus* and *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). *Phyton* 32 (1), 61-71.
- Naranjo, C. A. y A. B. Andrada (1975). El cariotipo fundamental en el género *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae). *Darwiniana* 19 (2-4), 566 - 582.
- Nascimento, T.; Gongalves, S. R.; Bâez, M.; Seijo, G. & Guerra, M. (2022). Molecular cytogenetics reveals an uncommon structural and numerical chromosomal heteromorphism in *Zephyranthes brachyandra* (Amaryllidaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 57(1), 31-40. doi.org/10.3897/CompCytogen.v11i3.13418.
- Navarro, M. P.; Honfi, H. I. y Daviña, J. R. (2015). Tamaño Genómico de especies de valor ornamental del género *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae). *Journal of Basic & Applied Genetics* 26 (1), 88.
- Poggio, L., Realini, M. F., Fourastié, M. F., García, A. M., & González, G. E. (2014). Genome downsizing and karyotype constancy in diploid and polyploid congeners: a model of genome size variation. *AoB Plants* 6. doi.org/10.1093/aobpla/plu029.
- Poggio, L., González, G., & Naranjo, C. (2007). Chromosome studies in *Hippeastrum* (Amaryllidaceae): variation in genome size. *Botanical Journal of the Linnean Society* 155 (2), 171-178. doi/epdf/10.1111/j.1095-8339.2007.00645.x.
- Ramella, L. y Perret, P. (2008). *Catalogus Hasslerianus. Parte 1*. acceso 7/ 2020, de Flora del Paraguay: www.ville-ge.ch/cjb/publications/publications_pdf/catalogus_hasslerianus_parte_1.pdf.
- Rodrigues, B. R. M.; Meiado, M. V. & Simabukuro, E. A. (2007). Influência da luz e do tegumento na germinação de *Hippeastrum stylosum* Herb. (Amaryllidaceae). *Revista Brasileira de Biociências* 5(S2), 603-605.
- Rodríguez Mata, O. A. (2022). Caracterización citogenética, reproductiva y fitoquímica de

- Amaryllidaceae. [Tesis doctoral Universidad Nacional de Misiones].
- Rodriguez Mata, O. A.; Honfi, A. I. y Daviña, J. R. (2018). Regeneración de bulbos de *Hippeastrum striatum* y *Habranthus brachyandrus* (Amaryllidaceae) sometidos a corte longitudinal. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 53 (4), 609-618. dx.doi.org/10.31055/1851.2372.v53.n4.21983
- Rodríguez Mata, O. A.; Gianini Aquino, A. C.; J. R. Daviña & A. I. Honfi. (2022). IAPT chromosome data 36/6. *TAXON* 71, no 5, E18-E19.
- Seemann, P., Riegel, R., Jara, G., Muñoz, M., Schiappacasse, E., Peñailillo, P. & Basoalto, A. (2006). Biotechnology and plant breeding of two chilean species of *Rhodophiala* Presl. (Amaryllidaceae). *Agro Sur* 34 (1-2), 5-7. doi.org/10.4206/agrosur.2006.v34n1-2-03.
- Schnack, B. y Covas, G. (1947). Estudios cariotípicos en Antófitas. *Haumania* 1 (1), 32 - 41.
- Sharma, A.K. & Ghosh, C. (1954). Further investigation on the cytology of the family Amaryllidaceae and its bearing on the interpretation of its phylogeny. *Genética Ibérica* 6, 71 - 100.
- Tandon, S. L. y Mathur, M. (1965). Estudios citotaxonómicos sobre algunas especies de *Zephyranthes*. *Revista India de horticultura*, 22 (2), 190-200.
- Tapia-Campos, E.; Rodriguez-Dominguez, J. M.; Revuelta-Arreola, M. M.; Van Tuyl, J. M. & Barba-Gonzalez, R. (2012). Mexican Geophytes II. The Genera *Hymenocallis*, *Sprekelia* and *Zephyranthes*. *Floriculture and Ornamental Biotechnology* 6 (SI 1), 129-139.
- Vijayavalli, B. & Mathew, P. M. (1990). Cytotaxonomy of the Liliaceae and allied families. Continental Publishers.
- Vogt, C. (2011). Composición de la flora vascular del Chaco Boreal, Paraguay I. Pteridophyta y Monocotiledoneae. *Steviana* 3, 13-47. doi.org/10.56152/StevianaFacenV3A2_2011
- Sveshnikova, L. I. & Zemskova, E. A. (1988). Chromosome numbers in some members of the Amaryllidaceae. *Botanicheskii Zhurnal* 73, 1207-1208.
- Zemskova, E. A. & Sveshnikova, L. I. (1999). Karyological study of some representatives of the family Amaryllidaceae. *Botanicheskii-Zhurnal* 84 (4), 86-98.
- Zuloaga, F.; Belgrano, M. y Zanotti, C. (2019). Actualización del Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur. Darwiniana Nueva Serie. 7 (2), 208-278. www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/861/1170.