

# Estudio comparativo del cariotipo en especies de *Miltinea* Ravenna, *Phycella* Lindl. y *Rhodophiala* C. Presl (Amaryllidaceae) de Chile

## Comparative karyotype studies in species of *Miltinea* Ravenna, *Phycella* Lindl. and *Rhodophiala* C. Presl (Amaryllidaceae) from Chile

Carlos Baeza<sup>1</sup>                      Eduardo Ruiz<sup>1</sup>  
Felipe Almendras<sup>1</sup>              Patricio Peñailillo<sup>2</sup>

Originales: Recepción: 29/03/2011 - Aceptación: 27/09/2012

### RESUMEN

La familia Amaryllidaceae se encuentra distribuida en diversas regiones de Chile y Sudamérica. De los 11 géneros reconocidos por Ravenna, al menos tres de ellos presentan un reconocido potencial ornamental: *Miltinea* Ravenna, endémico de Chile y conformado por la especie *Miltinea maulensis* (Ravenna) Ravenna, *Phycella* Lindley, endémico de Chile, conformado por cuatro especies y distribuido desde el valle de Elqui hasta la altura de la región de Arauco y *Rhodophiala* C. Presl. presente en el sur de Brasil, Uruguay, Bolivia, Argentina y Chile conformado por un número aproximado de 40 especies. Actualmente, la información taxonómica tradicional para diferenciar los géneros presentes en Chile es insuficiente. Es por ello que se utilizó la citotaxonomía como una herramienta y fuente de evidencia taxonómica. El objetivo de esta investigación fue realizar un estudio comparativo de los cariotipos en representantes de tres géneros de Amaryllidaceae que crecen en Chile con el fin de ayudar a clarificar la posición taxonómica de ellos. Las especies analizadas fueron: *Miltinea maulensis* (Ravenna) Ravenna, *Phycella australis* Ravenna, *Rhodophiala araucana* (Phil.) Traub, *Rhodophiala montana* (Phil.) Traub, y *Rhodophiala pratensis* (Poepp.) Traub. Los resultados obtenidos indicaron que *Miltinea*

### ABSTRACT

The family Amaryllidaceae is widely distributed in Chile and South America. Ravenna recognized 11 genera and at least three of them have ornamental value: *Miltinea* Ravenna, endemic to Chile consists of only one species, *Miltinea maulensis* (Ravenna) Ravenna; *Phycella* Lindley, endemic to Chile, consisting of four species, distributed from the Elqui valley in Northern Chile up to the Arauco region in the South, and *Rhodophiala* C. Presl. distributed in Southern Brazil, Uruguay, Bolivia, Argentina and Chile with about 40 species. Currently, traditional taxonomic information is insufficient to differentiate the genera of Amaryllidaceae in Chile. For this reason cytotaxonomy was used as a source of taxonomic evidence. The objective of this research was a comparative study of the karyotypes of the three Amaryllidaceae genera growing in Chile in order to clarify their taxonomic position. The studied species were: *Miltinea maulensis* (Ravenna) Ravenna, *Phycella australis* Ravenna, *Rhodophiala araucana* (Phil.) Traub, *Rhodophiala montana* (Phil.) Traub, and *Rhodophiala pratensis* (Poepp.) Traub. The results indicated that *Miltinea maulensis* and *Phycella australis* have very similar karyological characteristics: same chromosome number, chromosome karyotype formula, and indexes.

<sup>1</sup> Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, casilla 160-C, Concepción-Chile. cbaeza@udec.cl  
<sup>2</sup> Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, casilla 747, Universidad de Talca, Talca-Chile.

*maulensis* y *Phycella australis* presentan características cariológicas muy similares, tanto en el número cromosómico, fórmula cariotípica e índices cromosómicos. Estas características permitirían considerar *Miltinea* como un sinónimo de *Phycella*. Por último, las tres especies de *Rhodophiala* analizadas comparten características citológicas muy similares, como por ejemplo, la presencia de una región NOR en el brazo largo del cromosoma 7, idéntico número cromosómico e índices de asimetría de los cariotipos casi iguales.

Karyological evidence supports the hypothesis that *Miltinea* is a synonym of *Phycella*. Further on, the three species of *Rhodophiala* show similar cytological features, such as the presence of a NOR region on the long arm of chromosome 7, the same chromosome number, and a nearly equal index of karyotype asymmetry.

### Palabras clave

Amaryllidaceae • *Miltinea* • *Phycella* • *Rhodophiala* • cariotipo

### Keywords

Amaryllidaceae • *Miltinea* • *Phycella* • *Rhodophiala* • karyotype

## INTRODUCCIÓN

El mercado de la floricultura ha tenido un importante crecimiento en Chile en el período 1997 - 2007 reflejado en el aumento de un 51% del área de cultivo destinado a dicha actividad (29). En 2008, el valor total de exportación de flores de corte alcanzó un monto aproximado de US\$ 3,3 millones valor FOB, siendo los principales países compradores Holanda y Estados Unidos de América (29).

La innovación generada por el constante cambio de intereses y gustos que poseen los consumidores y por la alta exigencia de mayor variedad de especies, colores y formas de flores, hace necesario -como país productor- conocer la enorme diversidad de especies que potencialmente presenten valor ornamental. Chile, producto de su aislamiento geográfico, posee un gran número de especies endémicas, que constituyen alrededor del 47% del total de especies vegetales presentes en el país (16).

Una de las familias de plantas vasculares en Chile con un alto número de especies endémicas es Amaryllidaceae, la cual presenta géneros con un alto potencial en el mercado floricultor (5, 6). Se trata de hierbas perennes bulbosas provistas de un sistema radicular fibroso; hojas escasas dispuestas a ras del suelo, más o menos lineares, de venación paralela; y flores umbeladas o solitarias en el extremo del escapo, sustentadas por dos o más (raramente una sola) brácteas; generalmente vistosas, de color amarillo, rosado o rojo; el ovario se encuentra ubicado sobre o por debajo del perigonio; corona a menudo presente; estambres 6 (raramente más); filamentos libres o expandidos en la base y connados; estilo delgado, con un estigma capitado a 3-lobulado (o trifido); fruto una cápsula carnosa; semillas generalmente numerosas, de color negro y brillantes, con endosperma carnoso, rodeando el pequeño embrión, algunas veces angulares o comprimidas y aladas (7, 12, 14, 20, 27, 36, 37).

Desde hace mucho tiempo, la taxonomía de los géneros chilenos de Amaryllidaceae ha sido muy confusa. Philippi (21, 22, 23, 24, 25) describió varias especies, ubicándolas en los géneros *Habranthus* Herb., *Rhodolirium* Phil. y *Rhodophiala* C. Presl. Salisbury (32) propuso el género *Myostemma* Salisb., formado por una sola especie: *M. advena* (Ker-Gawl). Salisb. Esta situación concuerda parcialmente con lo propuesto por Philippi (25), quien además de *Rhodophiala* y *Phycella* reconoce *Hippeastrum* para la flora chilena. Traub & Moldenke (38) sinonimizaron a *Hippeastrum* bajo *Amaryllis* L., pero reconocen como subgéneros *Rhodophiala* y *Phycella* y dividen los taxa americanos de la familia Amaryllidaceae en dos grandes grupos: por un lado las plantas de hojas delgadas lineares, de 3 - 13 mm de ancho, plantas generalmente bajas, flores relativamente pequeñas de 2,5 a 8 cm, grupo formado por los subgéneros *Chilanthé*, *Rhodophiala* y *Phycella*. Todas las Amarilidáceas chilenas, más algunas especies argentinas, pertenecen a este grupo. El otro grupo presenta hojas anchas y plantas grandes. Está formado por subgéneros, tales como *Lais*, *Aschamia*, *Omphalissa* entre otros, que crecen en el norte de Argentina, Uruguay, Perú, Bolivia, Brasil, Venezuela, Colombia, México, Guyana Británica, Isla Guadalupe, Costa Rica, Cuba e Islas Bahamas. El trabajo más reciente de Amaryllidaceae en Chile es el de Ravenna (26), quien reconoce 11 géneros: *Bathya* Ravenna, *Habranthus* Herb., *Famatina* Ravenna, *Miltinea* Ravenna, *Myostemma*, *Phycella*, *Placea* Miers, *Pyrolirion* Herb., *Rhodolirium*, *Traubia* Moldenke y *Stenomesson* Herb.

En el presente estudio se trabajó con especies de tres géneros de Amaryllidaceae chilenos, los cuales tienen un indiscutible potencial ornamental:

- *Miltinea maulensis* (Ravenna) Ravenna es una especie endémica de Chile, presente en la cordillera de los Andes de las regiones VI y VII (30), con escapos multifloros; flores algo actinomorfas de color rojo brillante mirando hacia fuera o algo erectas; perigonio tubular; paraperigonio ausente; estigma capitado y exerto. Es una atractiva planta bulbosa, que florece profusamente en cultivo y, por ende, de enorme potencial ornamental.
- *Phycella australis* Ravenna es endémica de Chile, habita en la costa de la VII y VIII Regiones (4). Presenta escapos florales multifloros, con flores algo actinomorfas, erectas o mirando hacia fuera, la forma del perigonio es tubular, con un paraperigonio ausente o si está presente se encuentra formado por fimbrias libres unas de otras, estigma capitado o algo trilobado y exerto. Es una especie vistosa, muy utilizada como ornamental en la provincia de Concepción, donde suelen ser vendidas sus varas acompañando ramos florales de Alstroemerias.
- *Rhodophiala* C. Presl (tratado como *Myostemma* Salisb. por Ravenna) es un género conformado por aproximadamente 40 especies de Sudamérica tropical y subtropical. Su rango de distribución ocurre en Uruguay, Argentina, Bolivia y Chile (17). Las especies chilenas se distribuyen mayoritariamente desde la III a la X Región (20). Presenta un perigonio en forma de embudo formado por 6 tépalos; androceo de 6 estambres algo desiguales y gineceo tricarpelar de ovario ínfero y terminando en un estigma trifido. Es un género de geófitas

nativas de Sudamérica con alto valor ornamental y la mayoría de sus especies no están bien conocidas e incluso presentan problemas de conservación (15). Las especies estudiadas citológicamente fueron: *Rhodophiala araucana* (Phil.) Traub, endémica de Chile, suele encontrarse en suelos areno-arcillosos andinos en las Regiones VIII y IX. Presenta una inflorescencia de tipo cima umbeliforme, con 3-4 flores amarillas (30). *R. montana* (Phil.) Traub, también endémica, suele habitar planicies arenosas andinas, de la VII Región, en laderas de exposición norte. Su inflorescencia es similar a *R. araucana*, sus flores son 2-7, de color amarillo, con forma de embudo (30). Por último, *R. pratensis* (Poepp.) Traub, especie endémica que crece en suelos de preferencia arenosos de la precordillera de la Región VII y VIII, presenta (1-)2(-3) flores por inflorescencia, abiertas, de color rojo escarlata, a veces amarillentas, con estigma inserto.

La información citológica de la familia Amaryllidaceae en Chile es escasa. Palma-Rojas (18) determina para *Phycella ignea* (Lindl.) Lindl. un número cromosómico  $2n = 16$  y para *Phycella scarlatina* Ravenna  $2n = 32$ . Tanto Meerow & Snijman (13) como Ravenna (26) señalan para el género *Phycella*  $2n = 16$  cromosomas.

Es importante destacar que en estos trabajos no se señalan las especies que fueron estudiadas, la localización y la ubicación del material estudiado. En relación con el género *Rhodophiala*, Naranjo & Poggio (17) estudian el cariotipo de cinco especies argentinas, indicando para *R. rhodolirion* (Baker) Traub  $2n = 16$ , *R. bifida* (Herb.) Cabrera  $2n = 16$  y  $18$ , *R. elwessi* (C. H. Wright) Traub  $2n = 18, 36$  y  $72$  y *R. araucana* (Phil.) Traub  $2n = 54$ .

A su vez, Palma-Rojas (18) cita para *R. laeta* Phil.  $2n = 16$  y  $2n = 18$  para *Rhodophiala phycelloides* (Herb.) Hunz., *R. bagnoldii* (Herb.) Traub, y *R. advena* (Ker- Gawl.) Traub. Baeza et al. (3) reportan para dos poblaciones de *Rhodophiala* aff. *advena*  $2n = 18$  indicando además la presencia de cariotipos asimétricos. Por último, Baeza et al. (5, 6) citan para *Rhodolirium andicola* (Poepp.) Ravenna, *R. speciosum* (Herb.) Ravenna y *Traubia modesta* Phil  $2n = 16$ . A diferencia de *Rhodolirium*, cuyo cariotipo es simétrico con mayoría de cromosomas metacéntricos, *T. modesta* presenta cariotipo con alto grado de asimetría (6).

La citología es una herramienta de ayuda para resolver problemas taxonómicos y su utilidad está plenamente reconocida (34), sobre todo en géneros en los cuales la morfología floral no es suficiente o la variabilidad fenotípica es muy alta (35, 39).

El estudio de los cromosomas, tanto su número, forma y tamaño, podría contribuir a clarificar la posición taxonómica de los géneros de Amaryllidaceae en Chile.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente y teniendo en cuenta el gran potencial ornamental que presenta la familia Amaryllidaceae de Chile, se compararon los cariotipos de individuos pertenecientes a los tres géneros estudiados con el propósito de contribuir a clarificar la posición taxonómica de los mismos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó tejido meristemático radicular (ápices de raíces, obtenidas de semillas y de material de invernadero) de las especies *Phycella australis*, *Rhodophiala montana*, *R. araucana*, *R. pratensis* y *Miltinea maulensis*. La procedencia del material en estudio es la siguiente:

*Phycella australis*: VII Región. Provincia de Cauquenes. Tregualemu. 20 m, (36°00'S-72°46'W). 20-XII-2007. C. Baeza 4285 a (CONC). *Rhodophiala montana*: VII Región. Provincia de Talca. Cuesta Los Cóndores. 1815 m, (35°57'S-70°35'W). 14-II-2008. N. García 243 (CONC). *Rhodophiala araucana*: IX Región. Provincia de Malleco. Reserva Forestal Alto Bío-Bío. Paso Pino Hachado. 1783 m, (70°55'S-38°39'W). 29-I-2006. A. Terrab & C. Baeza 16c (CONC); VII Región. Provincia de Talca. Altos de Vilches. 500 m, (35°36'-71°12'). 29-XI-2008. C. Baeza 4293 (CONC). *Rhodophiala pratensis*: VIII Región. Provincia de Bío-Bío. Comuna de Canteras. Cruce camino Canteras a Antuco. 325 m (37°24'S-72°00'W). 17-XII-2005. C. Baeza 4251 (CONC). *Miltinea maulensis*: VII Región, Provincia de Talca, Comuna de San Clemente. Camino a la Laguna del Maule, entre sector La Loza Aguirre (Cajón de lo Aguirre) y Laguna del Maule. 2026 m, (35°58'S-70°33'W). 15-XII-2009. P. Gómez & S. Hahn (herbario Universidad de Talca).

Para la realización del estudio citológico de los cromosomas somáticos se utilizaron los ápices de raíces que fueron pretratados durante 24 horas a 4°C con una solución de 8-hidroxiquinoleína (2 mM). Luego, el material fue fijado en una solución de etanol absoluto / ácido acético 3:1 al menos durante 24 horas a 5°C. Posteriormente, fueron lavados dos veces con agua destilada por 10 minutos, para luego ser hidrolizados con HCl 0,5 M, durante 20 minutos a 42°C. Por último, se hizo un aplastado en una gota de orceína acética al 0,1%, previo lavado con agua destilada.

Las placas metafásicas obtenidas (7-12 por especie) fueron observadas y fotografiadas utilizando un microscopio Zeiss Axioskop, con cámara de video monocromática incluida. Se utilizó el software Paint Shop Pro X2 para mejorar la calidad de las imágenes. Las mediciones de los cromosomas se realizaron utilizando el software MicroMeasure versión 3,3 (28). Para la clasificación de los cromosomas se utilizó la metodología propuesta por Levan *et al.* (11). Para cada placa metafásica estudiada se calculó el índice de asimetría del cariotipo de Arano & Saito (1), los índices  $A_1$  y  $A_2$  de Romero Zarco (31) y los coeficientes  $CV_{Cl}$  y  $CV_{CL}$  de Paszko (19). Para mayor información acerca de los índices utilizados consultar a Paszko (19).

## RESULTADOS

El número de placas metafásicas estudiadas, la fórmula cariotípica, el número cromosómico, el coeficiente de variación de la longitud de los cromosomas y los índices de asimetría de *Miltinea maulensis*, *Phycella australis*, *Rhodophiala araucana*, *R. montana* y *R. pratensis* se encuentran descritos en la siguiente tabla (pág. 198).

**198** **Tabla.** Valores promedio de los índices de correlación obtenidos.  
**Table.** Average values of the correlations indexes.

	<i>M. maulensis</i>	<i>P. australis</i>	<i>R. araucana</i>	<i>R. montana</i>	<i>R. pratensis</i>
N° de placas metafásicas	9	7	12	11	10
Fórmula cariotípica	4m + 3sm + 1sm-sat	4m + 3sm + 1sm-sat	2m + 1sm + 1sm-sat + 5st	2m + 1sm + 1sm-sat + 5st	2m + 1sm + 1sm-sat + 5st
2n	16	16	18	18	18
CV <sub>Cl</sub>	24,1 ± 4,62	23,4 ± 1,97	33,2 ± 3,2	33,9 ± 4,4	32,5 ± 3,8
CV <sub>CL</sub>	33,1 ± 2,57	34,9 ± 1,95	25,0 ± 1,48	26,5 ± 1,56	28,5 ± 1,05
A <sub>1</sub>	0,38 ± 0,05	0,39 ± 0,04	0,58 ± 0,02	0,57 ± 0,03	0,59 ± 0,04
A <sub>2</sub>	0,34 ± 0,03	0,36 ± 0,02	0,25 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,28 ± 0,01
AsK%	62,0	62,0	73,7	73,0	74,4

CV<sub>Cl</sub>: coeficiente de variación del índice centromérico de los cromosomas.

CV<sub>CL</sub>: coeficiente de variación de la longitud de los cromosomas.

A<sub>1</sub>: índice de asimetría intracromosomal.

A<sub>2</sub>: índice de asimetría intercromosomal.

AsK%: índice de asimetría del cariotipo.

CV<sub>Cl</sub>: coefficient of variation of centromeric index.

CV<sub>CL</sub>: coefficient of variation of chromosome length.

A<sub>1</sub>: intrachromosomal asymmetry index.

A<sub>2</sub>: interchromosomal asymmetry index.

AsK%: asymmetry index.

Tanto *M. maulensis* como *P. australis* presentaron un número cromosómico  $2n = 2x = 16$  cromosomas, una fórmula cariotípica haploide compuesta por 4 pares de cromosomas metacéntricos y 4 pares de cromosomas submetacéntricos, de los cuales el par 4 siempre presenta un satélite en el brazo corto (figura 1: A, B, G, H, pág. 200). Ambas especies presentan similares índices de asimetría.

En cambio, todas las especies de *Rhodophiala* analizadas presentaron  $2n = 2x = 18$  cromosomas y una fórmula cariotípica haploide compuesta por 2 pares de cromosomas metacéntricos, 2 pares submetacéntricos, el n°7 con la presencia de una región organizadora del nucleolo (NOR) en el brazo largo y 5 pares de cromosomas subteloicéntricos (figura 1: C, D, E, F, I, pág. 200).

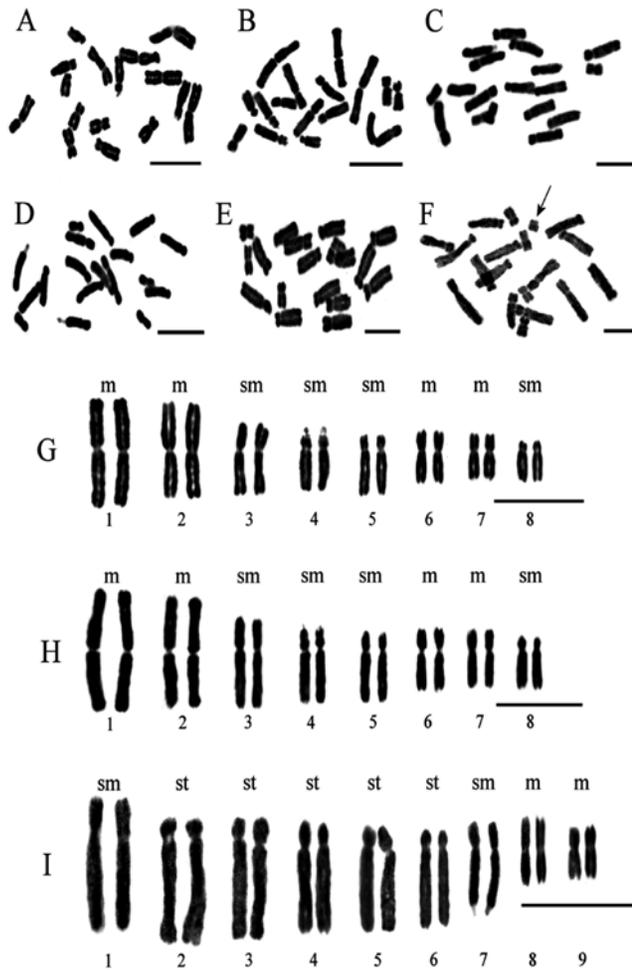
Se observó, además, la presencia de cromosomas extranumerarios (cromosomas B) en algunas placas metafásicas en la especie *R. pratensis* (figura 1 F, pág. 204, ver flecha). Los índices de asimetría calculados resultaron muy similares para las especies de *Rhodophiala* estudiadas (tabla, pág. 198).

La figura 2 (pág. 201) muestra el diagrama de dispersión obtenido al graficar los índices  $CV_{CL}$  vs  $CV_{CI}$  (19) en el que se observa que las especies de *Rhodophiala* estudiadas se agrupan en forma independiente de *Phycella australis* y *Miltinea maulensis*, las cuales a su vez forman un grupo bien definido. El patrón se repite al graficar los datos de los coeficientes  $A_1$  y  $A_2$  (figura 3, pág. 201) (31).

## DISCUSIÓN

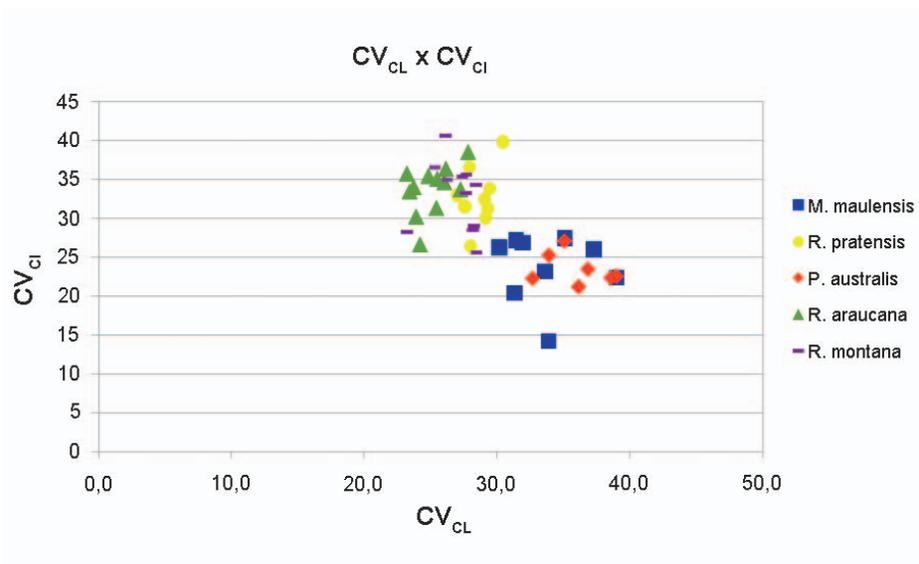
La delimitación genérica de los representantes chilenos de la familia Amaryllidaceae es compleja y conflictiva. El uso indiscriminado de nombres genéricos disponibles dentro de la familia ha producido gran confusión que hasta el momento no ha sido resuelta. Uno de los factores que ha contribuido han sido los numerosos aficionados, que tratando de solucionar los problemas taxonómicos de la familia, generaron más conflictos (8). Un buen ejemplo de los problemas taxonómicos en la familia es el género *Rhodophiala*, que ha sido tratado como *Myostemma* por Ravenna (26), quien ha indicado que se trata de un sinónimo de *Phycella*, por lo tanto *Rhodophiala* sería un género inválido. Esta situación no es reconocida por Arroyo-Leuenberger & Dutilh (2), quienes consideran *Myostemma* un sinónimo de *Rhodophiala*. *Rhodophiala* y/o *Myostemma* (tratado como *Rhodophiala* en este trabajo) presenta una combinación de características citológicas que permiten diferenciar las especies de este género de manera clara y precisa del resto de los géneros de la familia. Estos caracteres corresponden al número de cromosomas,  $2n = 18$ , una constricción secundaria en el brazo largo del cromosoma 7 (NOR) y un índice de asimetría  $AsK\%$  mayor a 70.

La dotación cromosómica  $2n = 18$  para especies de *Rhodophiala* ha sido reportada para dos poblaciones chilenas de *R. aff. advena* (Ker-Gawl.) Traub. por Baeza *et al.* (3). Lo mismo fue reportado por Palma-Rojas (18) para *R. phycelloides* (Herb.) Hunz., *R. bagnoldii* (Herb.) Traub y *R. advena* (Ker-Gawl.) Traub.



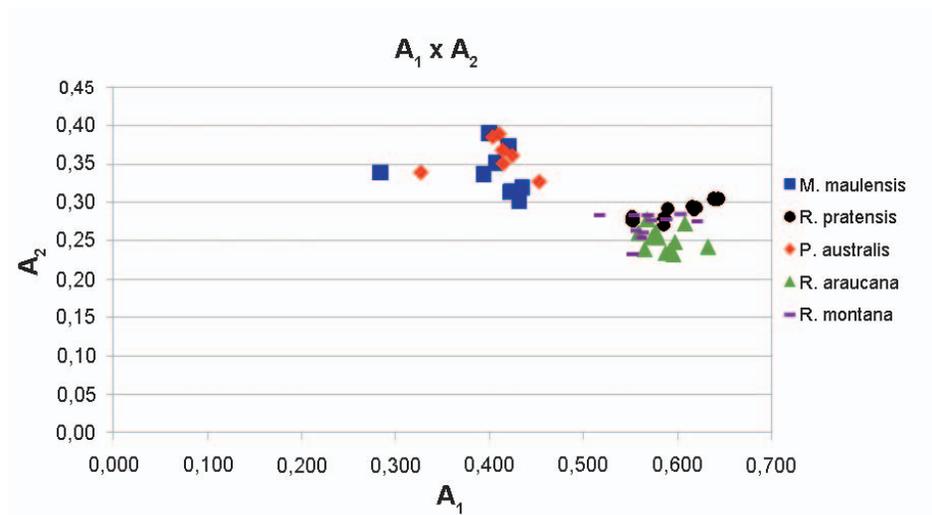
**Figura 1.** Placas metafásicas y cariotipos de: **A.** *Miltinea maulensis* (Gómez & Hahn s. n.) **B.** *Phycella australis* (Baeza 4285 a) **C.** *Rhodophiala araucana* (Terrab & Baeza 16 c) **D.** *R. montana* (García 243) **E.** *R. pratensis* (Baeza 4251) **F.** *R. pratensis* (Baeza 4251, la flecha indica la presencia de un cromosoma B) **G.** Cariotipo de *M. maulensis* (Gómez & Hahn s. n.) **H.** Cariotipo de *P. australis* (Baeza 4285 a) **I.** Cariotipo de *Rhodophiala pratensis* (Baeza 4251). Las escalas corresponden a 10  $\mu$ m.

**Figure 1.** Methaphasic photographs and karyotypes of: **A.** *Miltinea maulensis* (Gómez & Hahn s. n.) **B.** *Phycella australis* (Baeza 4285 a) **C.** *Rhodophiala araucana* (Terrab & Baeza 16 c) **D.** *R. montana* (García 243) **E.** *R. pratensis* (Baeza 4251) **F.** *R. pratensis* (Baeza 4251, the arrow indicates a B chromosome) **G.** Karyotype of *M. maulensis* (Gómez & Hahn s. n.) **H.** Karyotype of *P. australis* (Baeza 4285 a) **I.** Karyotype of *Rhodophiala pratensis* (Baeza 4251). Scale corresponds to 10  $\mu$ m.



**Figura 2.** Diagrama de dispersión para *Miltinea*, *Phycella* y *Rhodophiala* en los cuales se comparan los coeficientes  $CV_{CL}$  y  $CV_{CI}$  de todas las poblaciones analizadas.

**Figure 2.** Scatter diagrams for *Miltinea*, *Phycella* and *Rhodophiala* accessions using  $CV_{CL}$  and  $CV_{CI}$ .



**Figura 3.** Diagrama de dispersión para *Miltinea*, *Phycella* y *Rhodophiala* en los cuales se comparan los coeficientes  $A_1$  y  $A_2$  de todas las poblaciones analizadas.

**Figure 3.** Scatter diagrams for *Miltinea*, *Phycella* and *Rhodophiala* accessions using  $A_1$  and  $A_2$ .

Una excepción la constituye *Rhodophiala bifida* (Herb.) Traub, en la cual una población analizada por Naranjo & Poggio (17) presentó  $2n = 16$  cromosomas; sin embargo, la otra población analizada por ellos presentó un  $2n = 18$ . Un caso para tener en consideración es el de *R. laeta* Phil., en el que se ha contabilizado un  $2n = 16$  por Palma-Rojas (18) pero indicando que los cromosomas son muy diferentes de las otras especies analizadas. Esto podría obedecer a que *R. laeta* podría corresponder a otro género. En este contexto, Ravenna (26) transfirió *R. laeta* a *Rhodolirium laetum* (Phil.) Ravenna, género que se ajusta al número y morfología cromosómica indicada por Palma-Rojas (18) para *R. laeta*. Además, *Rhodolirium* fue validado citológicamente como un género más de las Amaryllidaceae chilenas por Baeza *et al.* (5), sobre la base de sus características citológicas.

Con respecto a la asimetría del cariotipo, la mayoría de los cromosomas de *Rhodophiala* son subtlococéntricos y sólo se observan dos pares de cromosomas metacéntricos que son los más pequeños del set (figura 1 C, D, E, F, I, pág. 200). El resto de los géneros de Amaryllidaceae para Chile posee cariotipos significativamente más simétricos que *Rhodophiala*. En la mayoría de las especies analizadas de *Rhodophiala* se presenta el NOR en el brazo largo del cromosoma 7, el cual es submetacéntrico (figura 1 I, pág. 200). Esto también fue observado por Palma-Rojas (18) en *R. phycelloides*, *R. bagnoldii* y *R. advena* y por Naranjo & Poggio (17) en *R. elwessi* (= *R. mendocina* (Phil.) Ravenna) y *R. araucana*. La presencia del NOR en el brazo largo del cromosoma 7 en *Rhodophiala* debería ser considerada como propia para este género, lo que constituiría una característica citotaxonomica de las especies de *Rhodophiala*. La existencia de un cromosoma marcador de esta naturaleza también ha sido indicada para especies de otros grupos de plantas. Por ejemplo, en todas las especies sudamericanas de *Lathyrus* L. (Fabaceae) también el cromosoma 7 presenta un microsatélite en el brazo largo (33). Lo mismo se da para especies sudamericanas de *Hypochaeris* L. (Asteraceae) en las cuales la presencia de la constricción secundaria está en el brazo largo del cromosoma 2 (40, 41, 42).

Palma-Rojas (18) y Naranjo & Poggio (17) señalan la presencia de cromosomas B o extranumerarios en *R. phycelloides*, *R. bagnoldii*, *R. advena* y *R. araucana* que muestran baja frecuencia y en *R. araucana* 1 ó 2 cromosomas B en algunos individuos. En el presente trabajo se observó en *R. pratensis* cromosomas B submetacéntricos en algunos individuos con frecuencia menor a un 5% (figura 1 F, ver flecha, pág. 200). Si bien el significado biológico de estos cromosomas sigue siendo discutido por especialistas en el tema (17, 18), no se observó ninguna correlación entre la presencia de cromosomas B en *R. pratensis* y alguna característica fenotípica particular en los individuos que los presentaron, que permita diferenciarlos del resto de la población.

El diagrama de dispersión  $CV_{CL} \times CV_{CI}$  está indicando una estrecha relación entre las 3 especies de *Rhodophiala* analizadas, las cuales se agrupan en forma independiente de *Miltinea maulensis* y de *Phycella australis* (figura 2, pág. 201). El diagrama de dispersión  $A_1 \times A_2$  está indicando la misma tendencia observada en el gráfico anterior, observándose una separación e independencia incluso mayor entre *Rhodophiala* y los otros dos géneros (figura 3, pág. 201).

*Miltinea* constituye un género monotípico chileno, el cual se caracteriza por presentar una posición morfológica intermedia entre *Phycella* y *Famatina* (26). Al analizar los cromosomas y el cariotipo de *M. maulensis* se observó que son idénticos a *Phycella australis* (figura 1 A-B, G-H, pág. 200). Ambas especies presentan la misma fórmula cariotípica, la misma dotación cromosómica y comparten prácticamente los mismos valores de los índices utilizados en esta investigación (tabla, pág. 198). Una característica notable es la presencia en ambas especies de una constricción secundaria subtelomérica en el brazo corto del cromosoma 4, situación también reportada por Grau & Bayer (8) para *Phycella* y por Palma-Rojas (18) para *P. ignea*. Esta constricción no siempre es visible, puesto que no fue observada por Baeza *et al.* (4) en una población de *P. australis* de la VIII región de Chile. Sin embargo, la aparición de constricciones secundarias puede ser variable, sobre todo si es portadora de genes ribosomales con actividad diferencial (4). Al igual que para *Rhodophiala*, esta característica encontrada en el cromosoma 4 podría ser considerada también como indicador de un cromosoma marcador. Las figuras 2 y 3 (pág. 201) muestran una estrecha relación entre *Miltinea maulensis* y *Phycella australis*, que incluso permitiría concluir que *Miltinea maulensis* podría ser considerada como una especie de *Phycella* desde el punto de vista citológico. En un estudio filogenético sobre la base de secuencias nucleotídicas del espaciador intergénico transcrito (ITS) utilizando especies chilenas de Amaryllidaceae, *Miltinea maulensis* forma parte del clado de *Phycella*, cuyo grupo hermano es *Placea*, un género chileno bien delimitado desde el punto de vista morfológico, por su paraperigonio en forma de una corona homologable a aquella del género *Narcissus* L. (9, 10).

Sobre la base de los resultados se desprende que si bien los representantes de la familia Amaryllidaceae poseen gran potencial como plantas ornamentales (20), son grupos muy difíciles de determinar morfológicamente. Futuras investigaciones aplicadas en el campo de la floricultura podrían considerar la citología como una herramienta de mucho valor para caracterizar plantas o grupos de plantas con gran potencial económico en Chile.

## CONCLUSIONES

Las características cariológicas utilizadas en el presente trabajo (número de cromosomas, índice de asimetría y constricción o presencia de NOR), en su conjunto, son importantes en la delimitación del género *Rhodophiala*.

Las especies de *Phycella* y *Miltinea* estudiadas, probablemente pertenezcan al mismo género.

*Phycella* presenta en la región subtelomérica del brazo corto del cromosoma 4 una constricción secundaria bastante notoria lo que podría considerarse como una característica citológica propia de este género.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Arano, H.; Saito, H. 1980. Cytological studies in family Umbelliferae 5. Karyotypes of seven species in subtribe Seselinae. La Kromosomo 2(17): 471-480.
2. Arroyo-Leuenberger, S.; Dutilh, J. 2008. Amaryllidaceae. En: Zuloaga, F.; Morrone, O.; Belgrano, M. (eds.). Catálogo de las plantas vasculares del cono sur. Vol. 1. p. 203-226.
3. Baeza, C.; Schrader, O.; Escobar, I. 2006. Estudio del cariotipo en *Rhodophiala aff. advena* (Ker-Gawl.) Traub de la VIII Región de Chile. Kurtziana 32: 45-51.
4. Baeza, C.; Ruiz, E.; Negritto, M. 2007. El número cromosómico de *Phycella australis* Ravenna (Amaryllidaceae). Gayana Bot. 64(1): 119-122.
5. Baeza, C.; Mariangel, C.; Ruiz, E.; Negritto, M. 2009. El cariotipo fundamental en *Rhodolirium speciosum* (Herb.) Ravenna y *R. andicola* (Poepp.) Ravenna (Amaryllidaceae). Gayana Bot. 66(1): 99-102.
6. Baeza, C.; Novoa, P.; Ruiz, E.; Negritto, M. 2009. El cariotipo fundamental en *Traubia modesta* (Phil.) Ravenna (Amaryllidaceae). Gayana Bot. 66(2): 297-300.
7. Baker, J. G. 1888. Handbook of the Amaryllidaceae, including the Alstroemerieae and Agaveae. London. I-XII, 1-216.
8. Grau, J.; Bayer, E. 1991. Zur Stellung der Gattung *Traubia* Moldenke (Amaryllidaceae). Mitt. Bot. Staatssamml. München 30: 479-484.
9. Letelier, L. A. 2010. Filogenia de los géneros de Amaryllidaceae de Chile: una aproximación desde la biología molecular. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Talca.
10. Letelier, L. A.; Baeza, C.; Fuentes, L.; Herrera, R.; Peñailillo, P. 2010. Sistemática de *Amaryllidaceae* Sudamericanas: ¿es válida la posición genérica de las especies *Miltinea maulensis* (Ravenna) Ravenna y *Famatina cisandina* Ravenna? X Congreso Latinoamericano de Botánica. La Serena, Chile [Resumen].
11. Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
12. Meerow, A. W. 2000. Breeding *Amaryllis*. In: Callaway, D. J.; Callaway, M. B. (eds.) Breeding ornamental plants. China. Timber Press. p. 175-195.
13. Meerow, A. W.; Snijman, D. 1998. Amaryllidaceae. In: Kubitzki, V. (ed.) The families and genera of vascular plants III. Flowering plants. Monocotyledons. Liliaceae (except Orchidaceae). Berlin. Springer. p. 83-110.
14. Muñoz, C. 1966. Flores silvestres de Chile. Ediciones de la Universidad de Chile. Santiago. Chile. 245 p.
15. Muñoz, M.; Seemann, P.; Jara, G.; Riegel, R. 2009. Influence of vessel type, physical state of medium and temporary immersion on the micropropagation of three *Rhodophiala* species. Chil. J. Agr. Res. 69(4): 581-587.
16. Myers, N.; Mittermeier, R.; Mittermeier, G.; da Fonseca, G.; Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature (403): 853-858.
17. Naranjo, C.; Poggio, L. 2000. Karyotypes of five *Rhodophiala* species (Amaryllidaceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 35(3-4): 335-343.
18. Palma-Rojas, C. 2000. Caracterización citogenética de los géneros *Rhodophiala* Presl. y *Phycella* Lindl. (Amaryllidaceae). En: Peñailillo, P.; Schiappacasse, F. (eds.) Seminario Los Geófitos Nativos y su Importancia en la Floricultura. Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Dirección de Investigación, Universidad de Talca (DIUT). Chile. p. 73-79.
19. Paszko, B. 2006. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. Plant Syst. Evol. 258: 39-48.
20. Peñailillo, P. 2000. Introducción a las geófitas chilenas de valor comercial. En: Peñailillo, P.; Schiappacasse, F. (eds.) Seminario Los Geófitos Nativos y su Importancia en la Floricultura. Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Dirección de Investigación Universidad de Talca (DIUT), Chile. p. 1-10.
21. Philippi, R. A. 1858. *Plantarum novarum chilensium*. Centuria quinta. Linnaea 29: 48-95.
22. Philippi, R. A. 1860. Viaje al desierto de Atacama hecho de orden del gobierno de Chile en el verano 1853-54. Halle. VIII, 236 p., 1 mapa, 27 lám.
23. Philippi, R. A. 1862. *Sertum mendocinum*. Catálogo de las plantas recojidas cerca de Mendoza i en el campo entre ésta i Chile por el portezuelo del Potillo, por don Wenceslao Diaz en los años de 1860 i 1861. Anales Univ. Chile 21: 389-407.

24. Philippi, R. A. 1873. Descripción de las plantas nuevas incorporadas últimamente en el herbario chileno. *Anales Univ. Chile* 43: 479-583.
25. Philippi, R. A. 1895. Plantas nuevas chilenas de las familias que corresponde al tomo V de la obra Gay. *Anales Univ. Chile* 90: 607-625, 1 lám., 759-772; 91:5-47, 105-160, 1 lám., 243-275, 415-432, 487-526.
26. Ravenna, P. 2003. Elucidation and systematics of the Chilean genera of Amaryllidaceae. *Botanica Australis* (2): 1-21.
27. Read, V. M. 2004. *Hippeastrum*, the gardener's amaryllis. Royal Horticultural Society plant collector guide. Timber Press. Cambridge. U. K. 296 p.
28. Reeves, A. 2001. MicroMeasure: a new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. *Genome* 44: 239-443.
29. Reyes, M.; Pedraza, D. 2008. Las flores de corte chilenas en 2007 y 2008. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA).
30. Riedemann, P.; Aldunate, G.; Teillier, S. 2008. Flora nativa de valor ornamental. Chile. Zona cordillera de los Andes. Salesianos impresores S. A.
31. Romero Zarco, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-530.
32. Salisbury, G. E. 1866. *Myostemma* Salisb. *Gen. Pl.* 135 p.
33. Seijo, J.; Fernández, A. 2003. Karyotype analysis and chromosome evolution in South American species of *Lathyrus* (Leguminosae). *Am. J. Bot.* 90(7): 980-987.
34. Stebbins, G. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London. 216 p.
35. Stuessy, T. 1990. Plant Taxonomy. The systematics evaluation of comparative data. Columbia University Press, New York. 514 p.
36. Traub, H. P. 1952. Biosystematic Experiments Involving *Zephyranthes*, *Habranthus* and *Amaryllis*. *Taxon* 1 (8): 121-123.
37. Traub, H. P. 1963. The genera of Amaryllidaceae. American Plant Life Society, La Jolla, California, USA. 85 p.
38. Traub, H. P.; Moldenke, H. N. 1949. Amaryllidaceae: tribe Amaryllaeae. Stanford. 194 p.
39. Valdés, B. 1997. Caracteres taxonómicos: Citología y Citogenética. En: Izco, J.; Barreno, E.; Brugués, M.; Costa, M.; Devesa, J.; Fernández, F.; Gallardo, T.; Llimona, X.; Salvo, E.; Talavera, S.; Valdés, B. (eds.) *Botánica*. McGraw-Hill, Interamericana. p. 133-154.
40. Weiss, H.; Stuessy, T.; Grau, G.; Baeza, C. 2003. Chromosome reports from South American *Hypochoeris* (Asteraceae). *Ann. Miss. Bot. Garden* 90: 56-63.
41. Weiss-Schneeweiss, H.; Stuessy, T.; Siljak-Yakovlev, S.; Baeza, C.; Parker, J. 2003. Karyotype evolution in South American species of *Hypochoeris* (Asteraceae, Lactuceae). *Plant Syst. Evol.* 241: 171-184.
42. Weiss-Schneeweiss, H.; Stuessy, T.; Tremetsberger, K.; Urtubey, E.; Valdebenito, H.; Beck, S.; Baeza, C. 2007. Chromosome numbers and karyotypes of South American species and populations of *Hypochoeris* (Asteraceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 153: 49-60.

#### Agradecimientos

Al Departamento de Botánica y a la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción por las facilidades otorgadas.

A los revisores anónimos que fueron fundamentales para mejorar la calidad del manuscrito.