DETERMINACIÓN DEL CARIOTIPO EN HELICONIAS NATIVAS DE MÉXICO

KARYOTYPE DETERMINATION IN NATIVE HELICONIAS OF MEXICO

Simitrio Ortiz-Curiel[1]*, Guillermo Carrillo-Castañeda[1], Tarsicio Corona-Torres[1], Moisés Cortés-Cruz[2] y Alfonso Muratalla-Lua[1]

[1]Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Campus Montecillo, Colegio de Posgraduados. km 36.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. [2]Centro Nacional de Recursos Genéticos, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Av. de la Biodiversidad No 2498. 47600, Col. Centro, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.

**Autor para correspondencia* (ortiz.simitrio@colpos.mx)

RESUMEN

Heliconia es un género que agrupa a especies tropicales y subtropicales; se distribuye de manera natural desde Brasil hasta México; la vistosidad de su inflorescencia permite su uso con fines ornamentales. Estudios cariológicos en *Heliconia* reportan especies con 2n = 2x = 22, 2n = 2x = 24 y 2n = 3x = 36 cromosomas. Debido a que en las especies de México se desconoce el número y morfología cromosómica, el presente estudio tuvo por objetivo determinar el cariotipo de *Heliconia uxpanapensis*, endémica de México, *H. latispatha* y *H. stricta* cv. Iris. El pretratamiento de las raíces se realizó con un medio físico (4 ± 1 ºC). El genoma haploide de *H. uxpanapensis* mide 22.21 µm, el de *H. latispatha* 26.56 µm y el de *H. stricta* 25.37 µm. Las tres especies tienen 2n = 2x = 24 cromosomas, la fórmula cariotípica de *H. uxpanapensis* está representada por 2n = 8m + 10sm (2sat) + 6st, el de *H. latispatha* 2n = 4m + 14sm + 6st (2sat) y el de *H. stricta* 2n = 16m + 8sm. El primero y segundo par de cromosomas de *H. latispatha* y *H. uxpanapensis*, respectivamente, presentan satélites, mientras que en *H. stricta* la presencia del satélite se observó en un solo cromosoma del genoma. Este es el primer estudio en el género *Heliconia* que reporta la presencia de cromosomas subtelocéntricos.

Palabras clave: *Heliconia uxpanapensis, Heliconia latispatha, Heliconia stricta,* agua fría.

SUMMARY

Heliconia is a genus that groups tropical and subtropical species, and it is distributed naturally from Brazil to Mexico. The brightness of its inflorescence allows its use for ornamental purposes. Karyological studies in *Heliconia* report species with 2n = 2x = 22, 2n = 2x = 24 and 2n = 3x = 36 chromosomes. Because the number and chromosome morphology of Mexican species is unknown, this study aimed to determine the karyotype of *Heliconia uxpanapensis*, endemic to Mexico, *H. latispatha*, and *H. stricta* cv. Iris. Pretreatment of roots was performed with a physical medium (4 ± 1 ºC). The length of the haploid genome of each species was 22.21 µm for *H. uxpanapensis*, 26.56 µm for *H. latispatha*, and 25.37 µm for *H. stricta*. The three species have 2n = 2x = 24 chromosomes; the karyotypic formula of *H. uxpanapensis* is represented by 2n = 8m + 10sm (2sat) + 6st; the one for *H. latispatha* is 2n = 4m + 14sm + 6st (2sat); and that for *H. stricta* is 2n = 16m + 8sm. The first and second pairs of chromosomes of *H. latispatha* and *H. uxpanapensis*, respectively, present satellites, whereas in *H. stricta* the presence of the satellite was only observed in a single chromosome of the genome. This is the first study in the genus *Heliconia* that reports the presence of sub-telocentric chromosomes.

Index words: *Heliconia uxpanapensis, Heliconia latispatha, Heliconia stricta*, cold water.

INTRODUCCIÓN

Heliconia es un género que integra cerca de 220 especies (Kress *et al*., 2004), el cual se distribuye de manera natural desde Brasil hasta México (De Castro *et al*., 2007). En México la diversidad de *Heliconia* está representada por 14 especies (De Castro *et al*., 2007), las cuales habitan en condiciones de clima tropical y subtropical y de suelos ácidos a alcalinos (Ortiz-Curiel *et al*., 2015). Especies como *H. latispatha*, con alta variabilidad intraespecífica, proliferan desde Ecuador hasta el noroeste de México (Berry and Kress, 1991; De Castro *et al*., 2007), mientras que especies como *H. uxpanapensis*, endémica, (De Castro *et al*., 2007; Gutiérrez, 2000) están restringidas al sureste mexicano.

El estudio de la estructura del genoma mediante el análisis citogenético genera conocimiento básico para subsecuentes estudios enfocados al aprovechamiento de la diversidad. Con este tipo de estudios es posible conocer el número cromosómico y con ello el nivel de ploidía, además de detectar aneuploidías; asimismo, el análisis de la morfología de los cromosomas (tamaño absoluto y relativo, posición del centrómero, la ubicación y el número de satélites) aporta información del dinamismo cromosómico (Poggio *et al*., 2008). La información generada puede explicar parcialmente el polimorfismo interespecífico e intraespecífico (Alcántar, 2014).

En *Heliconia*, los estudios cariológicos se han centrado en especies de Centro y Sudamérica, pero no en especies nativas de México, mucho menos en endémicas. Andersson

Recibido: 03 de agosto de 2017
Aceptado: 22 de mayo de 2018

(1984), en su estudio de 29 especies originarias de Panamá, Colombia, Ecuador y Guayana Francesa, reportó que las especies estudiadas poseen un número cromosómico 2n = 2x = 24; resultados similares reportaron Guangsui *et al.* (2010) en ocho variedades de *Heliconia*. Por otra parte, en el Index to Plant Chromosome Numbers (IPCN) (Goldblatt y Johnson, 2010), de 36 especies de *Heliconia* enlistadas, todas presentan n = 12 cromosomas, con excepción de *H. arabica* Lam., que posee n = 11; por su parte, Do Nascimento *et al.* (2014), en *H. bihai*, originaria de Sudamérica, reportaron 2n = 22, mientras que Lee *et al.* (1994), en cultivares de *H. psittacorum* y Kaemwong and Eksomtramage (1998) en *H. densiflora*, reportaron 2n = 3x = 36.

Respecto a la morfología cromosómica, Andersson (1984) mencionó que los cromosomas son metacéntricos a submetacéntricos, con longitud de 0.7 a 1. 7 µm y sólo en algunas especies pudo observar satélites. De la misma manera, Do Nascimento *et al.* (2014) encontraron solamente cromosomas metacéntricos a submetacéntricos.

El estudio cromosómico en células somáticas se realiza mediante pretratamientos físicos o químicos. Una compactación moderada (prometafase) de los cromosomas hace posible localizar el centrómero, las constricciones secundarias y los satélites, con los cuales es posible determinar una serie de parámetros que otorgan una clasificación única a cada genoma (Stace, 2000).

Múltiples estudios utilizan medios químicos para el pretratamiento; no obstante, Schweizer (1973) y Lodish *et al.* (2013) mencionan que mediante la exposición de células somáticas a 4 ºC los microtúbulos se despolimerizan debido a que se afecta su ensamblaje y estabilidad y con ello se interrumpe el proceso mitótico. Kato (1997, 1999) en raíces de maíz (*Zea mays* L.), encontró que el frío como pretratamiento permitió la adecuada compactación y dispersión de los cromosomas, mientras que Mirzaghaderi (2010) utilizó agua fría en el pretratamiento de raíces de trigo (*Triticum aestivum* L.) y obtuvo de tres a cuatro veces más células en metafase que incluso con colchicina.

Para contribuir en el conocimiento cariológico de las especies de *Heliconia* nativas de México, el presente estudio tuvo por objetivo determinar el cariotipo de *H. uxpanapensis* (endémica), *H. latispatha* y *H. stricta*, originaria de Sudamérica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se estudiaron las especies *H. uxpanapensis* (endémica), *H. latispatha* y *H. stricta* cv. Iris, originaria de Sudamérica. El material vegetativo de las dos especies de *Heliconia* nativas, previo a los estudios citogenéticos, se corroboró a nivel de especie en el herbario UCAM de la Universidad Autónoma de Campeche, lugar donde se resguardan los ejemplares herborizados. Para el estudio se tomaron cinco rizomas por cada especie, cada rizoma de diferente población. El estudio cariológico se realizó en el laboratorio de citogenética del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México en los meses de enero a abril de 2017.

Preparación de las muestras

Debido a que las especies son tropicales y a que en el periodo en que se realizó el trabajo prevalece un clima frío (4 ºC ± 1), para inducir a los rizomas a la emisión de raíces se utilizó el protocolo propuesto por Do Nascimento *et al*. (2014), que consiste en colocarlos en baño María a 30 ºC.

Se colectaron raíces nuevas de 0.5 a 1 cm de longitud y se colocaron en tubos Eppendorf, éstos se llenaron con agua destilada y posteriormente se expusieron al frío para inducir células en metafase según la metodología de Kato (1997). Después de 8, 12, 16, 18 y 24 h se extrajeron las raíces y se fijaron en alcohol etílico y ácido acético glacial 3:1, en seguida se colocaron en refrigeración a 4 ºC. Después de 12 a 18 h las raíces se hidrolizaron por 10 min en ácido clorhídrico 1 N a 60 ºC, se sometieron a digestión enzimática con pectinasa 0.3 µM en baño María a 32 ºC por 2 h y se tiñeron con reactivo de Feulgen a 60 ºC por 2 min para favorecer la tinción. Para observar los cromosomas, un pequeño segmento del ápice de la raíz se colocó sobre el portaobjetos y se aplicó la técnica del aplastado (García, 1990). Los tiempos de exposición al frío se ajustaron hasta obtener células que permitieran visualizar sin ambigüedad la morfología de los cromosomas.

Recolección y análisis de la información

Las imágenes se capturaron con una cámara digital modelo MU-1000 (Marca AmScope, China). adaptada al microscopio. Cinco fotomicrografías de mejor resolución, de igual número de individuos por especie, se seleccionaron y procesaron con el software KaryoType (Altınordu *et al.*, 2016) (disponible en http://mnh.scu.edu.cn/soft/blog/karyotype/). Este software, con base en la posición del centrómero en el cromosoma, calcula: 1) Longitud total = Brazo largo + Brazo corto (LT = BL + BC), 2) Índice centromérico = Brazo corto/Longitud total × 100 (IC = (BC/LT) × 100), 3) Relación de brazos = Brazo largo/Brazo corto (RB = BL/BC) y 4) Tipo de cromosoma, metacéntrico, submetacéntrico o subtelocéntrico (Levan *et al.*, 1964). El programa proporciona también la fórmula cariotípica, la longitud del genoma haploide y el grado de asimetría de Stebbins

(1971); esta última se basa en la variación intercromosomal (proporción de cromosomas grandes/pequeños) e intracromosomal (proporción de cromosomas con relación de brazos < 2:1 respecto al genoma diploide).

RESULTADOS

El pretratamiento de las raíces con frío generó células en prometafase. El tiempo para la compactación óptima estuvo en función del genotipo; de esta manera, se requirieron 12, 13 y 14 h para *H. latispatha*, *H. stricta* y *H. uxpanapensis*, respectivamente. Las raíces más gruesas requirieron mayor tiempo para la óptima condensación.

En este trabajo se determinó por primera vez el cariotipo de *H. uxpanapensis*. Se encontró que esta especie presenta 2n = 2x = 24 cromosomas (Cuadro 1), los cuales tienen longitudes de entre 1.0 y 2.76 µm (Cuadro 2) y aun cuando los cromosomas se observaron en prometafase, con base en la clasificación de Stace (2000), éstos van de pequeños a medianos. Los satélites se observaron en el segundo par cromosómico, (Figura 1 A), cuya longitud total haploide resultó de 22.21 ± 0.1 µm (Cuadro 2), mientras que la asimetría del genoma, debido a que el tamaño de los cromosomas oscila de pequeño a mediano y al reducido número de cromosomas metacéntricos, se caracteriza como asimétrico tipo 3A (Cuadro 2).

Heliconia latispatha presenta un número cromosómico 2n = 2x = 24, el tamaño de sus cromosomas oscila de pequeños a medianos y su grado de asimetría corresponde a 3A (Cuadro 1). La principal diferencia de este cariotipo con respecto al de *H. uxpanapensis* radica en que los satélites se localizan en diferentes cromosomas (Figura 1 B).

El número cromosómico de *H. stricta* es 2n = 2x = 24, el cual es idéntico al de las otras dos especies estudiadas. En el presente estudio se observó la presencia de al menos un satélite en el complemento cromosómico, el cual se localiza en el brazo corto de un cromosoma submetacéntrico (Figura 1 C). La longitud de los cromosomas oscila entre 1.44 y 3.03 µm (Cuadro 2), mientras que la simetría, a diferencia de las dos especies nativas, presenta mayormente cromosomas metacéntricos, por lo que presenta asimetría clase 2A.

DISCUSIÓN

El número cromosómico de *H. uxpanapensis*, que se identificó en este trabajo como 2n = 24, coincide con el de *H. latispatha*, mientras que, el número cromosómico de *H. latispatha* coincide con lo que obtuvo Andersson (1984) en ejemplares de la misma especie, pero originarios de Panamá y Ecuador. En a *H. stricta*, se observaron 2n = 24

Cuadro 1. Parámetros cariotípicos del genoma haploide de tres especies de *Heliconia*.

ChrH	*H. uxpanapensis*				*H. latispatha*				*H. stricta*			
	LT (µm)	IC (%)	RB (µm)	Tipo	LT (µm)	IC (%)	RB (µm)	Tipo	LT (µm)	IC (%)	RB (µm)	Tipo
1	2.76 ± 0.2	20.31 ± 2.2	3.92 ± 0.5	st	3.41 ± 1.2	16.37 ± 1.9	5.11 ± 0.7	st	3.03 ± 0.2	31.10 ± 4.4	2.21 ± 0.46	sm
2	2.33 ± 0.3	29.33 ± 10.1	2.41 ± 1.2	sm	2.89 ± 1.1	28.24 ± 10.0	2.54 ± 1.3	sm	2.58 ± 0.1	33.93 ± 4.6	1.95 ± 0.41	sm
3	2.22 ± 0.1	25.08 ± 2.4	2.99 ± 0.4	sm	2.60 ± 0.1	31.12 ± 10.3	2.21 ± 1.1	sm	2.42 ± 0.1	36.28 ± 6.7	1.76 ± 0.52	sm
4	2.12 ± 0.1	28.09 ± 8.9	2.56 ± 0.9	sm	2.53 ± 0.7	24.49 ± 7.3	3.08 ± 1.3	st	2.36 ± 0.1	41.09 ± 5.9	1.43 ± 0.37	m
5	2.03 ± 0.1	30.66 ± 5.9	2.26 ± 0.6	sm	2.34 ± 0.6	22.08 ± 4.0	3.53 ± 0.8	st	2.32 ± 0.1	37.39 ± 7.9	1.67 ± 0.63	m
6	1.97 ± 0.1	23.60 ± 2.2	3.24 ± 0.4	st	2.30 ± 0.6	28.21 ± 7.4	2.54 ± 0.9	sm	2.25 ± 0.0	41.61 ± 3.9	1.40 ± 0.22	m
7	1.91 ± 0.1	25.34 ± 1.9	2.95 ± 0.3	sm	2.20 ± 0.6	29.66 ± 12.0	2.37 ± 1.1	sm	2.12 ± 0.1	35.10 ± 4.4	1.85 ± 0.39	sm
8	1.75 ± 0.1	23.98 ± 5.7	3.17 ± 1.2	st	1.91 ± 0.5	25.64 ± 6.2	2.90 ± 0.8	sm	2.03 ± 0.2	42.31 ± 7.5	1.36 ± 0.51	m
9	1.63 ± 0.1	37.22 ± 8.4	1.69 ± 0.7	m	1.82 ± 0.5	29.29 ± 7.1	2.41 ± 0.7	sm	1.72 ± 0.1	37.34 ± 5.1	1.68 ± 0.35	m
10	1.35 ± 0.1	40.72 ± 7.6	1.46 ± 0.5	m	1.72 ± 0.5	34.04 ± 9.6	1.94 ± 0.7	sm	1.59 ± 0.1	40.69 ± 4.2	1.46 ± 0.23	m
11	1.14 ± 0.1	45.94 ± 1.1	1.18 ± 0.1	m	1.50 ± 0.4	45.72 ± 1.1	1.19 ± 0.1	m	1.51 ± 0.2	41.43 ± 7.1	1.41 ± 0.49	m
12	1.00 ± 0.1	43.68 ± 3.6	1.29 ± 0.2	m	1.36 ± 0.4	42.34 ± 2.5	1.36 ± 0.1	m	1.44 ± 0.2	41.96 ± 3.4	1.38 ± 0.21	m

ChrH: cromosoma haploide, LT: longitud total, IC: índice centromérico, RB: relación de brazos, st: subtelocéntrico, sm: submetacéntrico, m: metacéntrico.

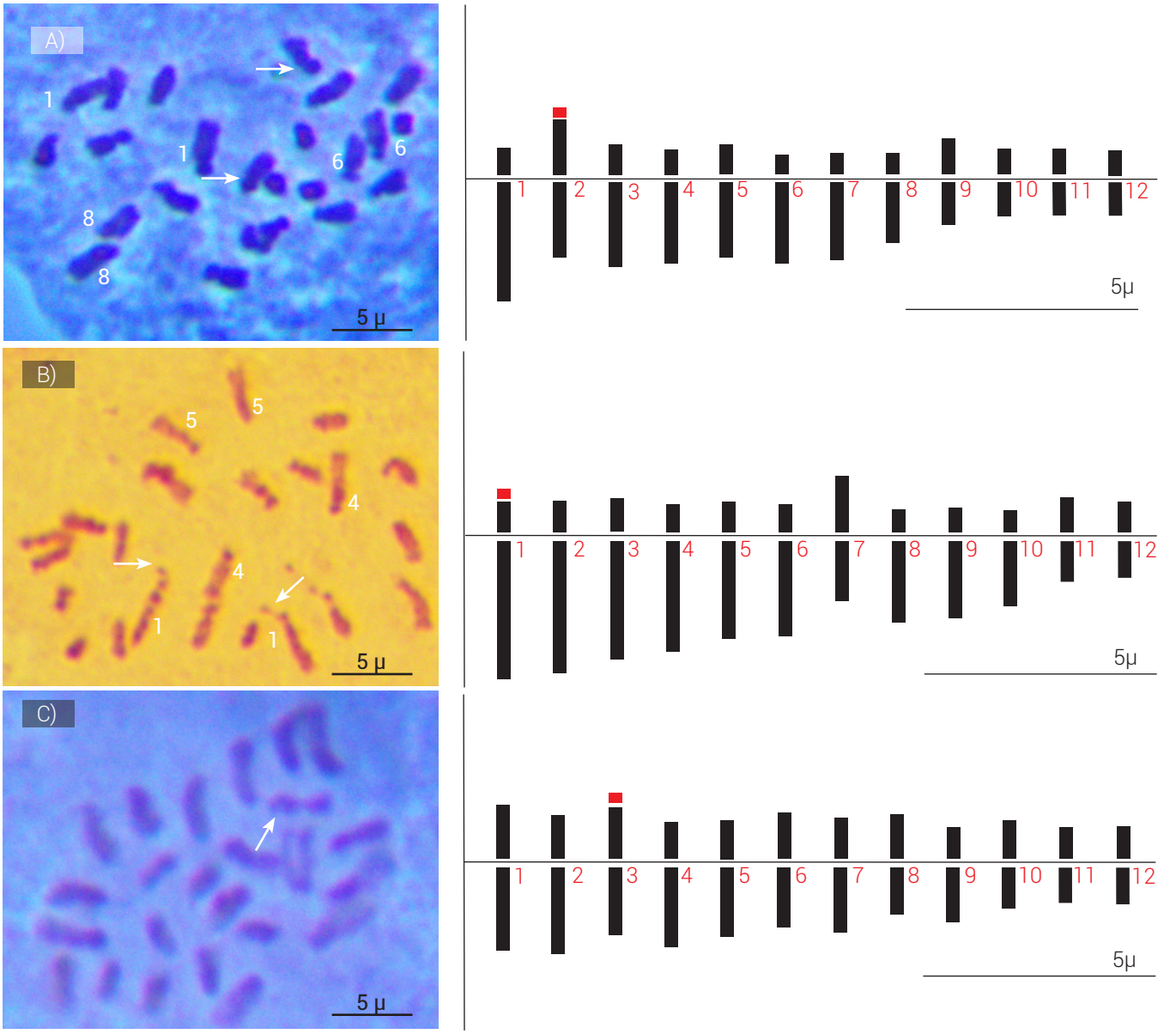


Figura 1. Cromosomas en prometafase y su respectivo ideograma A) *H. uxpanapensis*, B) *H. latispatha* y C) *H. stricta*. Las flechas señalan cromosomas con satélites. Los números dentro de la imagen indican cromosomas subtelocéntricos.

Cuadro 2. Parámetros y fórmula del cariotipo de tres especies de *Heliconia*.

Especie	2n	LTH (µm)	Fórmula cariotípica†	AC
H. uxpanapensis	24	22.21 ± 0.1	2n = 2x = 8m + 10sm(2sat) + 6st	3A
H. latispatha	24	26.56 ± 0.6	2n = 2x = 4m + 14sm + 6st(2sat)	3A
H. stricta	24	25.37 ± 0.1	2n = 2x = 16m + 8sm(1sat)	2A

†Los datos entre paréntesis en la fórmula cariotípica indican número de satélites y tipo de cromosoma que lo porta; 2n: número cromosómico diploide; LTH: longitud total del genoma haploide; AC: asimetría del cariotipo con basa en la variación inter e intracromosomal.

cromosomas, como lo reportaron Guangsui *et al.* (2010).

Los cariotipos de *H. uxpanapensis* y *H. latispatha* presentaron similitudes en cuanto a la presencia de cromosomas metacéntricos, submetacéntricos y subtelocéntricos (Cuadro 2), además de la presencia de satélites en el brazo corto; sin embargo, la principal diferencia entre ambos es la ubicación del satélite. Estos resultados, en conjunto, son diferentes a los que encontró Andersson (1984) en las 29 especies de Centroamérica y Sudamérica; dicho autor reportó cromosomas metacéntricos y submetacéntricos únicamente; además, observó satélites en los brazos largos.

En *H. stricta* cv. Iris solamente se observaron cromosomas metacéntricos y submetacéntricos, lo cual coincide con los estudios de Guangsui *et al.* (2010); sin embargo, en el presente estudio fue posible observar el satélite en un cromosoma de cada célula observada.

Destaca la presencia de cromosomas subtelocéntricos en las especies de México aquí estudiadas, pues hasta ahora, ningún estudio ha reportado este tipo de cromosomas en especies del género *Heliconia*. Costa *et al.* (2016) en 18 genotipos de *Heliconia*, entre ellos triploides, corroboraron la presencia exclusiva de cromosomas metacéntricos y submetacéntricos.

Los índices de asimetría 2A de la especie *H. stricta* y 3A de *H. uxpanapensis* y *H. latispatha*, aducen diferencias entre cariotipos, lo cual significa que el cariotipo de *H. stricta* es más simétrico. Stebbins (1971), Schubert (2007) y Medeiros-Neto *et al.* (2017) mencionan que los cariotipos asimétricos son resultado del dinamismo cromosómico, como consecuencia de inversiones paracéntricas o pericéntricas, por lo que al final de los re-arreglos cromosómicos el centrómero puede posicionarse hacia los extremos, lo que genera cromosomas subtelocéntricos o telocéntricos.

Con base en estas afirmaciones, se deduce que el cariotipo de las especies *H. uxpanapensis* y *H. latispatha* ha sufrido rearreglos y los factores antes citados pueden contribuir a la asimetría observada. En relación con la posición de los satélites, Schubert (2007) indica que éstos son de carácter altamente polimórfico, y su movilidad dentro del genoma obedece a factores ajenos que aún se desconocen.

Stace (2000), por su parte, afirmó que los genomas más asimétricos son producto de adaptaciones a las condiciones ambientales; en este sentido, Flores-Maya *et al.* (2006), en *Quercus rugosa*, encontraron correlación entre su cariotipo asimétrico y la adaptación que muestran a ambientes menos favorables, contrario a *Q. elliptica*, que solamente prospera en hábitats bien conservados y posee un cariotipo simétrico. Lo anterior puede tener cierta relación con las especies *H. uxpanapensis* y *H. latispatha* que prosperan en la zona de transición del trópico a neártico, mientras que las especies de *Heliconia* citadas en la literatura, entre ellas *H. stricta*, son originarias de zonas tropicales de los países centros de origen como Colombia y Ecuador. Estudios más intensivos sobre el cariotipo de las especies de México deben realizarse para confirmar esta aseveración.

La procedencia de los ejemplares podría ser una de las posibles causas de que se haya observado un solo cromosoma con satélite en *H. stricta*. Ramsaroop (1995) señala que el ahora cv. Iris se colectó en ambiente silvestre con base en el potencial comercial de su inflorescencia; observaciones en campo y estudios de laboratorio indican que este material no produce frutos debido a que presenta anormalidades en sus estructuras sexuales, entre ellas, aborto del polen y aberraciones en los pistilos y estigmas, lo cual podría estar relacionado con anormalidades cromosómicas. Swanson (1968) menciona que todos los genomas haploides tienen al menos un cromosoma con constricción secundaria, por lo que en el genoma diploide del cv. Iris es razonable esperar que se observe un segundo satélite. Con base en lo anterior, no se descarta que sea necesario realizar adecuaciones más puntuales en el pretratamiento a esta especie para observar de manera más detallada sus cromosomas.

Referente a la longitud de los cromosomas, los valores que se encontraron en el presente estudio fueron superiores a los que reportaron Andersson (1984) en las 29 especies y Guangsui *et al.* (2010) en ocho variedades. Debido a que la longitud es un parámetro que puede estar condicionado por el pretratamiento, en este estudio se puede atribuir al agua fría la condensación moderada de los cromosomas y con ello, la visualización de los satélites. Mirzaghaderi (2010) en su estudio sobre pretratamientos, que incluyeron medios físicos o químicos y la combinación de ambos para obtener células en metafase en variedades de trigo, encontró que el índice de metafases con agua fría fue de tres a cuatro veces superior al de otros tratamientos. Kato (1997), con raíces de maíz, encontró que el agua fría propició índices de metafases similares al uso de medios químicos, incluso al de colchicina.

Debido a que en la literatura existe información poco precisa sobre la caracterización cariotípica del género *Heliconia*, es necesario realizar trabajos complementarios con otras especies de México mediante la evaluación de pretratamientos que eluciden las características cromosómicas con mayor precisión.

CONCLUSIÓN

Heliconia uxpanapensis, *H. latispatha* y *H. stricta* poseen un número cromosómico 2n = 2x = 24, al igual que la mayoría de las especies de Sudamérica hasta ahora estudiadas; no obstante, las especies nativas *H. uxpanapensis*, *H. latispatha* difieren por la presencia de cromosomas subtelocéntricos, lo cual sugiere posibles rearreglos cromosómicos como resultado de un genoma en constante evolución, mientras que *H. stricta* presenta cromosomas metacéntricos en la mayoría de los casos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo de la beca concedida al primer autor, lo que permitió en parte, la realización de esta investigación, y al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias por el financiamiento económico y las facilidades brindadas para el desarrollo de la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

Alcántar V. J. P. (2014) La poliploidía y su importancia evolutiva. *Temas de Ciencia y Tecnología* 18:17-29.

Altınordu F., L. Peruzzi, Y. Yu and X. He (2016) A tool for the analysis of chromosomes: KaryoType. *Taxon* 65:586-592, https://doi.org/10.12705/653.9

Andersson L. (1984) The chromosome number of *Heliconia* (Musaceae). *Nordic Journal of Botany* 4:191-193, https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1984.tb01486.x

Berry F. and W. J. Kress (1991) *Heliconia*. An Identification Guide. Smithsonian Institution Press. Washington, D.C. 334 p.

Costa M. G. S., B. S. F. Leite, V. Loges, E. B. C. Silva, A. S. da Costa, W. N. R. Guimarães and A. C. Brasileiro-Vidal (2016) Chromosome markers confirm origin of *Heliconia* hybrids and triploids. *Euphytica* 212:501-514, https://doi.org/10.1007/s10681-016-1780-5

De Castro C. E. F., A. May e C. Gonçalves (2007) Atualização da nomenclatura de espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae). *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental* 13:38-62, https://doi.org/10.14295/rbho.v13i1.204

Do Nascimento H. R., R. Gallo, I. V. Karsburg and A. S. Oliveira (2014) Cytogenetic and identification of the nucleolus organizer region in *Heliconia bihai* (L.) L. *Revista Ceres* 61:451-457, http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201461040002

Flores-Maya S., I. Flores-Moreno, S. Romero-Rangel, C. Rojas-Zenteno y L. E. Rubio-Licona (2006) Análisis cariológico de ocho especies de encinos (*Quercus*, Fagaceae) en México. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63:245-250, http://dx.doi.org/10.3989/ajbm.2006.v63.i2.8

García V. A. (1990) Técnicas y Procedimientos de Citogenética Vegetal. 3a. edición. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 144 p.

Goldblatt P. and D. E. Johnson (2010) Index to plant chromosome numbers 2004-2006. *Regnum Vegetabile* 106:1-242.

Guangsui Y., Y. Junmei, L. Qingyun, Z. Yanxia and Z. Zhiqun (2010) Karyotypes comparison of eight varieties of *Heliconia* spp. *Chinese Journal of Tropical Crops* 2010:2118-2123, https://doi.org/10.39369/j.issn.1000-2561.2010.12.006x

Gutiérrez B. C. (2000) Flora de Veracruz. Fascículo 80. Icacinaceae. Instituto de Ecología A. C. y University of California-Riverside. Xalapa, Veracruz. 16 p.

Kaemwong S. and L. Eksomtramage (1998) Chromosome numbers of genus *Heliconia*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 20:489-495.

Kato A. (1997) An improved method for chromosome counting in maize. *Biotechnic & Histochemistry* 72:249-252, https://doi.org/10.3109/10520299709082248

Kato A. (1999) Air drying method using nitrous oxide for chromosome counting in maize. *Biotechnic & Histochemistry* 74:160-166, https://doi.org/10.3109/10520299909047968

Kress W. J., J. Betancur y B. Echeverry (2004) Heliconias. Llamaradas de la Selva Colombiana. 2ª edición. Cristina Uribe Editores. Santafé de Bogotá, Colombia. 200 p.

Lee Y. H., N. Y. Ng and C. J. Goh (1994) Pollen formation and fruit set in some cultivars of *Heliconia psittacorum*. *Scientia Horticulturae* 60:167-172, https://doi.org/10.1016/0304-4238(94)90072-8

Levan A., K. Fredga and A. A. Sandberg (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220, https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x

Lodish H., A. Berk, C. A. Kaiser, M. Krieger, A. Bretscher, H. Ploegh, A. Amon and M. P. Scott (2013) Molecular Cell Biology. 7th edition. W. H. Freeman. New York, USA. 1247 p.

Medeiros-Neto E., F. Nollet, A. P. Moraes and L. P. Felix (2017) Intrachromosomal karyotype asymmetry in Orchidaceae. *Genetics and Molecular Biology* 40:610-619, http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0264

Mirzaghaderi G. (2010) A simple metaphase chromosome preparation from meristematic root tip cells of wheat for karyotyping or ***in situ*** hybridization. *African Journal of Biotechnology* 9:314-318, https://doi.org/10.5897/AJB09.1437

Ortiz-Curiel S., C. H. Avendaño-Arrazate, A. Olivera-De los Santos, M. Grajales-Solís, J. Canul-Ku, M. Cortés-Cruz y L. Iracheta-Donjuan (2015) *Heliconia* L.: género subutilizado en México. *Agroproductividad* 8:51-59.

Poggio L., S. M. Espert y R. H. Fortunato (2008) Citogenética evolutiva en leguminosas americanas. *Rodriguésia* 59:423-433.

Ramsaroop B. (1995) *Heliconias* in Guayana. *Bulletin Heliconia Society International* 7:11-12.

Schubert I. (2007) Chromosome evolution. *Current Opinion in Plant Biology* 10:109-115, https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.01.001.

Schweizer D. (1973) Differential staining of plant chromosomes with Giemsa. *Chromosoma* 40:307-320, https://doi.org/10.1007/BF00326184

Stace C. A. (2000) Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. *Taxon* 49:451-477, https://doi.org/10.2307/1224344

Stebbins G. L. (1971) Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold Ltd. London, UK. 216 p.

Swanson C. P., T. Merz y W. J. Young (1968) Citogenética. Manuales UTEHA No. 310. Ed. UTEHA México, D. F. 321 p.