



# ESTUDIO MORFO-ANATÓMICO COMPARADO EN PECÍOLOS DE LAS ESPECIES DE *ASPLENium* (ASPENIACEAE) DE ARGENTINA

## COMPARATIVE MORPHO-ANATOMICAL STUDY IN PETIOLES OF *ASPLENium* (ASPENIACEAE) SPECIES FROM ARGENTINA

María A. Ganem<sup>1\*</sup>, María L. Luna<sup>2,3</sup>, Osvaldo Ahumada<sup>1</sup> y Gabriela E. Giudice<sup>2</sup>

1. Cátedra de Botánica General, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Alberdi n° 47, (4600) San Salvador de Jujuy, Argentina.


2. Cátedra Morfología Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Edificio Anexo Museo, Boulevard 120 entre 61 y 64, (1900) La Plata, Argentina.

3. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Camino Gral. Belgrano y 526, (1900) La Plata, Argentina.

\*aleganem@hotmail.com

### Citar este artículo


GANEM, M. A., M. L. LUNA, O. AHUMADA & G. E. GIUDICE. 2019. Estudio morfo-anatómico comparado en pecíolos de las especies de *Asplenium* (Aspleniaceae) de Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 54: 191-201.

 DOI: <http://dx.doi.org/10.31055/1851.2372.v54.n2.24364>

Recibido: 28 Septiembre 2018

Aceptado: 9 febrero 2019

Publicado: 30 Junio 2019

Editora: Ana María Gonzalez 

ISSN versión impresa 0373-580X

ISSN versión on-line 1851-2372

### SUMMARY

**Background and aims:** The morphology and the anatomy of the petioles provide useful information for taxonomic issues in ferns. The aim of this study was to analyze the diagnostic characters of petioles in 37 species of *Asplenium* that grow in Argentina, to contribute to their identification and to ascertain on their adaptive significance.

**M&M:** Herbarium specimens and fresh material were employed. Materials were analyzed under stereoscopic and light microscopes; in the latter case, the samples were processed following the conventional histological techniques. The characters analyzed were: colour, length, presence of wings, sub-epidermic mechanical tissue, aeration lines, circumendodermal band (CB), shape and number of vascular bundles and xylem contour.

**Results:** Some characteristics of the petioles allow the grouping of species. The diagnostic features are: colour, presence/absence of wings, number of vascular bundles, bundles contour, xylem contour and presence/absence of CB.

**Conclusions:** Petiole characters alone do not allow the identification of the taxa at specific level, although along with others they contribute to the systematics of the genus. The anatomy of the petiole does not show in general terms relationship with the habit of these plants. The type and distribution of subepidermic mechanical tissue and the presence of CB are associated with species that inhabit exposed and dry environments, but these features are not exclusive of the taxa that grow under these conditions.

### KEY WORDS

*Asplenium*, circumendodermal band, petiole, taxonomy, vascular bundles.

### RESUMEN

**Introducción y objetivos:** Las características externas e internas de los pecíolos brindan información útil para los estudios taxonómicos en helechos. El objetivo de este trabajo fue analizar los caracteres diagnósticos del pecíolo en las 37 especies de *Asplenium* que crecen en Argentina, para contribuir a su identificación e indagar sobre su significado adaptativo.

**M&M:** Se emplearon especímenes de herbario y material fresco. Los materiales se analizaron con microscopios estereoscópico y óptico; en el último caso las muestras fueron procesadas siguiendo las técnicas histológicas convencionales. Los caracteres analizados fueron: color, longitud, presencia de alas, tejido mecánico sub-epidérmico, líneas de aireación, banda circumendodermal (BC), forma y número de los haces vasculares y contorno del xilema.

**Resultados:** Algunas características de los pecíolos permiten el agrupamiento de especies. Los caracteres diagnósticos son: color, presencia/ausencia de alas, número de haces vasculares, contorno de los haces, contorno del xilema y presencia/ausencia de BC.

**Conclusiones:** Los caracteres del pecíolo por sí solos no permiten la identificación de los taxa a nivel específico, si bien junto con otros contribuyen a la sistemática del género. La anatomía del pecíolo no evidencia en general relación con el hábito de estas plantas. El tipo y la disposición del tejido mecánico sub-epidérmico y la presencia de BC se asocian a especies que crecen en ambientes expuestos y secos, pero no son exclusivos de los taxa que crecen bajo estas condiciones.

### PALABRAS CLAVE

*Asplenium*, banda circumendodermal, haces vasculares, pecíolo, taxonomía.

## INTRODUCCIÓN

El género *Asplenium* (Aspleniaceae) se halla representado en Argentina por 37 especies distribuidas principalmente en el Noroeste, Noreste y Centro, y unas pocas en el área Patagónica (Ponce, 1996; Giudice *et al.* 2013; Ganem *et al.* 2016).

Las Aspleniaceae son de interés para los estudios morfológicos, dado su amplio rango de distribución y el elevado número de especies que contemplan (más de 700, Schneider 1997). Ello resulta en una gran variedad de caracteres morfológicos sistemáticos y adaptativos, asociados al hábito terrestre, saxícola o epífito.

El género *Asplenium* comprende plantas con rizomas erectos a cortamente rastreros, con escamas clatradas; pecíolos herbáceos a lignificados, acanalados dorsalmente, con o sin alas; láminas enteras o divididas (1-3 pinnadas), herbáceas a subcarnosas, glabras, a veces con escamas en los raquis, venas libres o raramente anastomosadas; soros oblongos a lineares con indusio de inserción lateral, de margen entero a eroso, a veces ausente; esporas monoletes, castaño-oscuros, con perisporio plegado a crestado con diferentes ornamentaciones; número básico de cromosomas  $x = 36$  (Smith, 1981; Tryon & Stolze, 1993; Ganem *et al.*, 2016).

En las Aspleniaceae las características anatómicas de las raíces junto con la morfología de los rizomas, de las láminas y de las esporas aportan información diagnóstica (Giudice *et al.* 2002, 2013; Ganem *et al.* 2007, 2014, 2016; Wetzell *et al.* 2017). En cuanto a los pecíolos, su morfología y anatomía han probado brindar caracteres sistemáticos diagnósticos, como el color y el número de surcos (1 a 3) generalmente en la cara adaxial, la presencia de alas, así como el número de haces y el contorno del xilema (Keating, 1968; Kato, 1972; Ogura, 1972; Lin & De Vol, 1977 a, b; Umikalsom, 1992; Gabancho *et al.* 2011). Asimismo, la presencia o ausencia de alas en los pecíolos es un carácter diagnóstico a nivel de especie en *Asplenium* (Lin & De Vol, 1977a).

El objetivo de este trabajo fue realizar el análisis comparado de los caracteres morfo-anatómicos de los pecíolos, con el fin de aportar información a la sistemática del género, especialmente de los taxones que crecen en Argentina, e indagar sobre su relación con los hábitos y los distintos ambientes donde crecen estas plantas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El material analizado provino principalmente de ejemplares de herbario (ca. de 400 ejemplares) y de material recolectado en el campo. Los ejemplares de referencia fueron depositados en los herbarios LP y JUA.

Para los estudios con microscopio óptico (MO) se utilizaron como mínimo 3 individuos por especie. Las muestras fueron procesadas siguiendo técnicas convencionales (D' Ambroggio de Argüeso, 1986; Zarlavsky, 2014), las que se describen brevemente a continuación.

Para recuperar el material de herbario, porciones de pecíolo fueron colocadas en vasos de precipitado con agua y unas gotas de detergente no iónico, y calentadas suavemente. En el caso del material fresco, este se fijó en formol- alcohol etílico- ácido acético (FAA) hasta su procesamiento.

Se realizaron cortes en las porciones basal y media de los pecíolos, tanto a mano alzada con cuchillas descartables como con micrótopo de congelación (criótomo). Las secciones obtenidas fueron coloreadas con safranina y montadas con gelatina-glicerina.

El material fue observado y fotografiado con microscopio estereoscópico Nikon SMZ 1000 y microscopio óptico Nikon E200.

### Material de referencia

*Asplenium abscissum* Willd. Prov. Misiones: Dpto. Cainguas, Arroyo del Valle, Reserva UNLP, sobre arroyo Tateto, 10-I-2003, Márquez *et al.* 46 (LP).

*A. achalense* Hieron. Prov. Tucumán: Dpto. Monteros, Quebrada Pueblo Viejo, epífito, 1-I-1965, de la Sota 4060 (LP).

*A. alatum* Humb. & Bonpl. ex Wild. Prov. Misiones: Dpto. San Pedro, terrestre, creciendo en grietas entre rocas - recubriendo salpicaduras provenientes del salto, 10-I-1991, Johnson 0153 (SI).

*A. argentinum* Hieron. Prov. Misiones: Dpto. Guaraní: en selva marginal, curso de arroyo, hierba saxícola de color verde, 23-IX-1993, Rodriguez *et al.* 00732 (LP).

*A. auriculatum* Sw. Prov. Misiones: 19-VIII-1972, Eskuche 01760 (SI).

*A. auritum* Sw. Prov. Jujuy: Dpto. Libertador, Gral. San Martín, Parque Nacional Calilegua, 25-V-2011, Ganem *et al.* 58 (JUA).

María A. Ganem et al. - Morfología y anatomía de pecíolos de *Asplenium*

- A. balansae* (Baker) Sylvestre. Prov. Misiones: Dpto. Caingúas, Reserva Privada del Arroyo Cuña Pirú, 3-I-2005, Márquez & Biganzoli F. 701 (SI).
- A. brasiliense* Sw. Prov. Misiones: Dpto. San Pedro, Reserva de Biósfera Yabotí, Parque Provincial Esmeralda, sendero junto al arroyito de la “toma de agua”, 22-XI-2006, Belgrano et al. 583 (SI).
- A. clausenii* Hieron. Prov. Jujuy: Dpto. Manuel Belgrano, Parque Botánico Los Perales, 10-XI-1994, Ganem 06 (JUA). Dpto. Palpalá, sierras de Zapla, 4-VI-2014, Ganem et al. 295 (JUA).
- A. cuspidatum* Lam. Prov. Jujuy: Dpto. Ledesma, Parque Nacional Calilegua, 31-V-2016, Ganem et al. 301 (JUA).
- A. dareoides* Desv. Prov. Tierra del Fuego: Río Cambaceres, 17-III-1967, Goodall 766 (LP).
- A. depauperatum* Fée. Prov. Tucumán: Dpto. Graneros, 9-V-1964, Garenzo 2115 (LIL).
- A. formosum* Willd. Prov. Salta: Dpto. Anta, Parque Nacional El Rey, 14-VI-1980, A. Brown 1038 (LP).
- A. gastonis* Fée. Prov. Misiones: Dpto. San Pedro, Reserva Esmeralda, laguna semi-permanente a la izq. del camino que va al A° Florida, 26-IV-2007, Márquez et al. 209 (CTES).
- A. gilliesi* Hook. Prov. Jujuy: Dpto Valle Grande, Co. Hermoso, faldeo oeste, común en microambientes muy húmedos y protegidos (al abrigo de rocas) 3390 msnm, 21-I-1995, Ayarde 477 (LIL).
- A. harpeodes* Kunze. Prov. Jujuy: Dpto. Ledesma, Parque Nacional Calilegua, Aguada del tigre, 5-VI-2014, Ganem et al. 300 (JUA).
- A. inaequilaterale* Willd. Prov. Misiones: Dpto. San Pedro, Parque Provincial Moconá, 7-V-1999, Deginiani et al. 1085 (SI).
- A. kunzeanum* Klotzsch ex Rosenst. Prov. Misiones: Dpto San Pedro, R. P. Caa Yari, 27°09'S 53°54'W, 360 msnm, 12-III-2009, Marquez et al. 249 (LP).
- A. lilloanum* de la Sota. Prov. Jujuy: Dpto. Sta. Bárbara, del Fuerte a Cachipunco, 20-II-1985, Kiesling et al. 5456 (SI).
- A. lorentzii* Hieron. Prov. Jujuy: Dpto. Manuel Belgrano, Yala, 3-VI-2014, Ganem et al. 298 (JUA).
- A. monanthes* L. Prov. Jujuy, Dpto. Manuel Belgrano, Tiraxi, 5-VI-2014, Ganem et al. 290 (JUA).
- A. mucronatum* C. Presl. Prov. Misiones: Dpto. Iguazú, Puerto Península, 19-VIII-1972, selva semi explotada, epifito, Eskuche 01761 (SI).
- A. palmeri* Maxon. Prov. Córdoba: Dpto. Ascochinga, IX-1936, Nicora 972 (SI).
- A. papaverifolium* (Kunze) Viane. Prov. Santa Cruz: Dpto. Lago Argentino, I-1958, James 1371 (SI).
- A. praemorsum* Sw. Prov. Salta: Dpto. La Caldera, Camino de cornisa Salta-Jujuy, 4-III-1999, Ganem 124 (JUA).
- A. pulchellum* Raddi. Prov. Misiones: Dpto. Caingúas, predio UNLP, Reserva Valle del Arroyo Cuña Pirú, alrededores del balneario, borde del arroyo C.P. 27°05'12”S 54°57'11”W barranca del arroyo, terrestre, sotobosque, 22-I-2004, Biganzoli et al. 1293 (SI).
- A. pumilum* Sw. Prov. Salta: Dpto. Capital, Río Mojotoro, margen derecho, unos 1500 m al este del puente de FCGR, en barranca húmeda, 22-III-1987, C. Palaci 917 (LP).
- A. resiliens* Kunze. Prov. Jujuy: Dpto. Manuel Belgrano, Parque Botánico Los Perales, 10-XI-1994, Ganem 08 (JUA).
- A. scandicinum* Kaulf. Prov. Misiones: Dpto. Caa Yari, 18-V-2009, Márquez et al. 257 (LP).
- A. sellowianum* C. Presl ex Hieron. Prov. Buenos Aires: Dpto. Ensenada, Punta Lara, 29-IX-1974, Zardini 355-1 (LP).
- A. serra* Langsd. & Fisch. Prov. Jujuy: Dpto. Ledesma, Parque Nacional Calilegua, 24-V-2011, Ganem et al. 272 (JUA).
- A. serratum* L. Prov. Misiones: Dpto. Gral. Manuel Belgrano, Reserva de Vida Silvestre Urugua-í, sendero al cerro Largo 25°59'85”S 54°06'35”W 370 msnm, en el sotobosque, 24-IX-2004, Múlgura de Romero et al. 3940 (SI).
- A. squamosum* L. Prov. Jujuy: Dpto. Manuel Belgrano, Yala, 3-VI-2014, Ganem et al. 299 (JUA).
- A. trilobum* Cav. Prov. Chubut: Dpto. Cushamen, Parque Nacional Lago Puelo, Arroyo Melo, Vidoz 140 (LP).
- A. triphyllum* C. Presl. Prov. Jujuy: Dpto. Rinconada, 1-III-1964, H. Schwabe et al. 905 (LP).
- A. ulbrichtii* Rosenst. Prov. Buenos Aires: Pdo. Ensenada, Punta Lara, arroyo Capitán, 22-X-1985, Castro 99 (LP).
- A. uniseriale* Raddi. Prov. Misiones: Dpto. San Pedro, Parque Provincial Moconá, picada a la gruta, Marque & Yañez 51 (LP).

## RESULTADOS

Los caracteres morfológicos y anatómicos del pecíolo analizados en las 37 especies de *Asplenium* se muestran en la Tabla 1.

Los pecíolos pueden ser verdosos o castaños a castaño oscuro, lustroso, y disponerse en forma erecta o péndula (Fig. 1A-B). Pueden ser cortos (1-7 cm), de 1/10 a 1/20 de la longitud de la lámina, o tan largos (40-50 cm) como la lámina y por lo general tienen un surco dorsal (adaxial).

El indumento consiste en pelos pluricelulares o escamas lanceoladas clatradas semejantes a las del rizoma, o filiformes, generalmente ubicadas en la zona basal (Fig. 1C-E).

Usualmente se observan extensiones laterales flanqueando los pecíolos, denominadas alas, que presentan variabilidad en su desarrollo. Éstas pueden medir 1-2 mm de ancho como en *A. alatum* (Fig. 1F), o tener escaso desarrollo (menor a 1 mm) como en *A. abscissum* y *A. argentinum*. Las alas pueden extenderse en los raquis, como en *A. alatum*, *A. clausenii* y *A. lilloanum*. En algunas especies no se observan alas, como en *A. dareoides* y *A. uniseriale* (Fig. 2A-C).

En sección transversal los pecíolos muestran un contorno redondeado en la mayoría de las especies, ocasionalmente oblongo (Fig. 2B-D). Externamente se distingue la epidermis y a continuación la corteza y los haces vasculares. La epidermis es uniestratificada y por debajo se observa un tejido subepidérmico mecánico, que tiene diferentes características, grado de desarrollo y disposición (Fig. 2A). Éste puede estar constituido por tejido esclerenquimático con distintas capas de espesor (entre 2 a 5) o un parénquima de paredes algo

engrosadas (Fig. 2E-F, H-J). Puede consistir en una banda continua (interrumpida a la altura de las alas) o encontrarse ubicado solo hacia la cara abaxial (Fig. 2A).

En varias especies, entre ellas *A. dareoides*, *A. praemorsum* y *A. ulbrichtii*, se observan en el pecíolo interrupciones del tejido subepidérmico, llamadas líneas continuas laterales de aireación, que cumplen funciones de ventilación (Fig. 2 D-G).

En casi la totalidad de los pecíolos ingresan basalmente dos haces vasculares elípticos o en forma de C, donde el xilema presenta también forma de C, o en algunos casos forma de “hipocampo” dada por la curvatura del protoxilema (por ejemplo en *A. serra*) (Fig. 3A-C, E). Estos haces se unen en la zona media para formar un único haz rodeado de una endodermis, donde el xilema presenta forma de X o V, raramente de U (*A. cuspidatum*) (Fig. 3D, I). En aquellos pecíolos en los que el xilema de los haces presenta en la zona basal forma de hipocampo, esta figura puede apreciarse también cuando los haces se unen en forma de X o de V en la zona media (Fig. 3D). En el pecíolo de *A. auritum* ingresa un solo haz vascular con forma de U, el cual se mantiene a lo largo de todo el recorrido, presentando también el xilema forma de U (Fig. 3F).

Por fuera de la endodermis se distingue generalmente una banda circumendodermal (BC) (Fig. 3G-I). Ésta se caracteriza por sus células de paredes engrosadas en mayor o menor grado, y su coloración castaño oscuro. La BC suele ser continua pero en ocasiones está interrumpida, como en *A. serratum* (Fig. 3I). En algunos pecíolos no se observa la BC. En estos casos se distinguen grupos de células esclerenquimatosas rodeando el haz vascular (por ejemplo *A. auritum*) (Fig. 3F).

**Tabla 1.** Caracteres morfo-anatómicos de los pecíolos y hábito de las especies de *Asplenium* de Argentina. Alas presentes (p). TMS: tejido mecánico subepidérmico continuo (c), solo abaxial (a). BC: banda circumendodermal (presente: p). GCE: grupos de células de paredes engrosadas. LA: Líneas de aireación (presentes: p). P:L: Relación pecíolo/lámina. Número y contorno de los haces vasculares corresponde a la zona basal del pecíolo. Hábito: T: terrestre. E: epífita S: saxícola

Especie	color	alas	TMS	BC	LA	P:L	Número haces zona basal	Contorno del xilema zona media	Hábito de la planta
<i>A. abscissum</i>	verde castaño	p	a	p	—	1/1	2	X	T S E
<i>A. achalense</i>	castaño oscuro	p	c (interrumpido en alas)	—	p	1:2/3	2	X	E

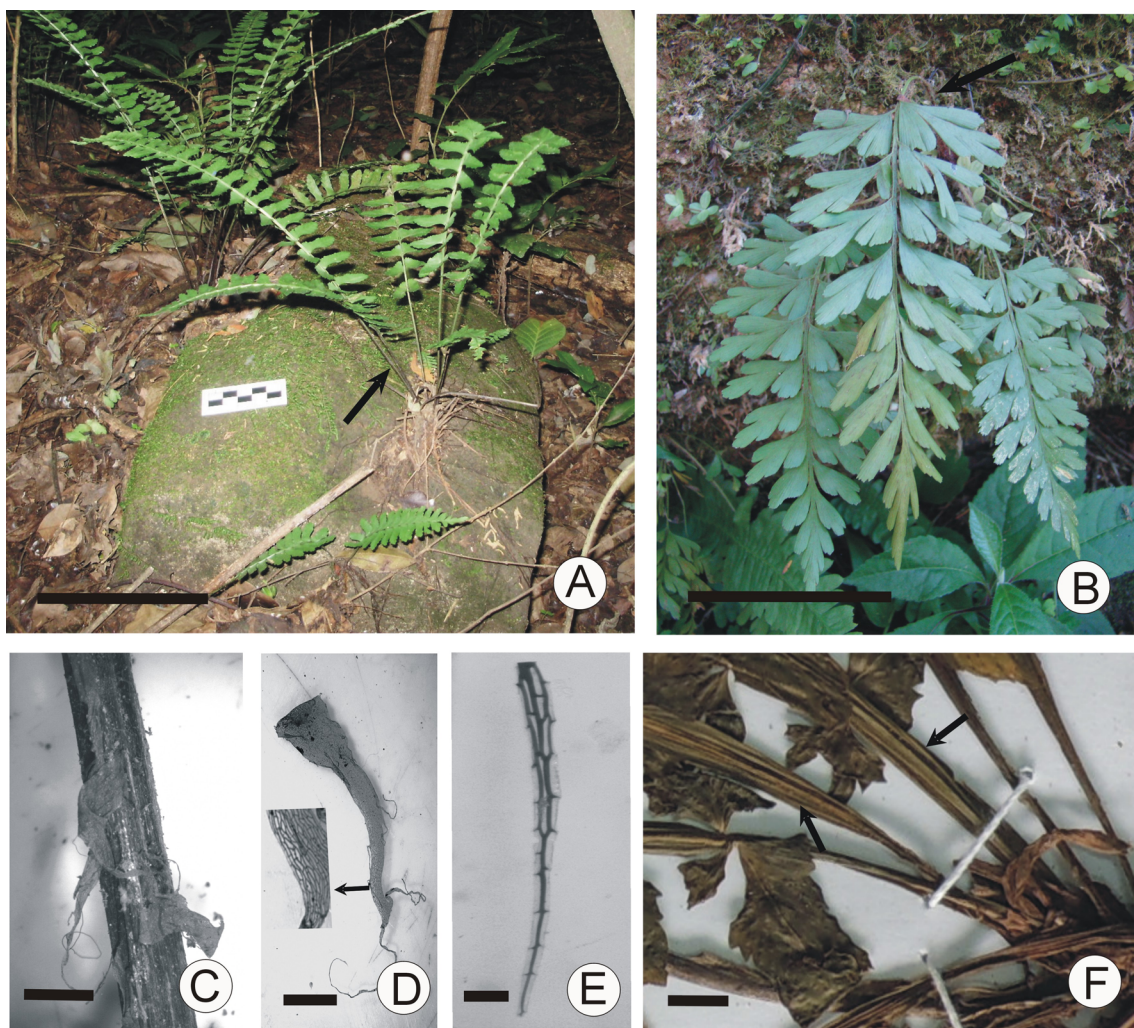
María A. Ganem *et al.* - Morfología y anatomía de pecíolos de *Asplenium*

Tabla 1. Continuación.

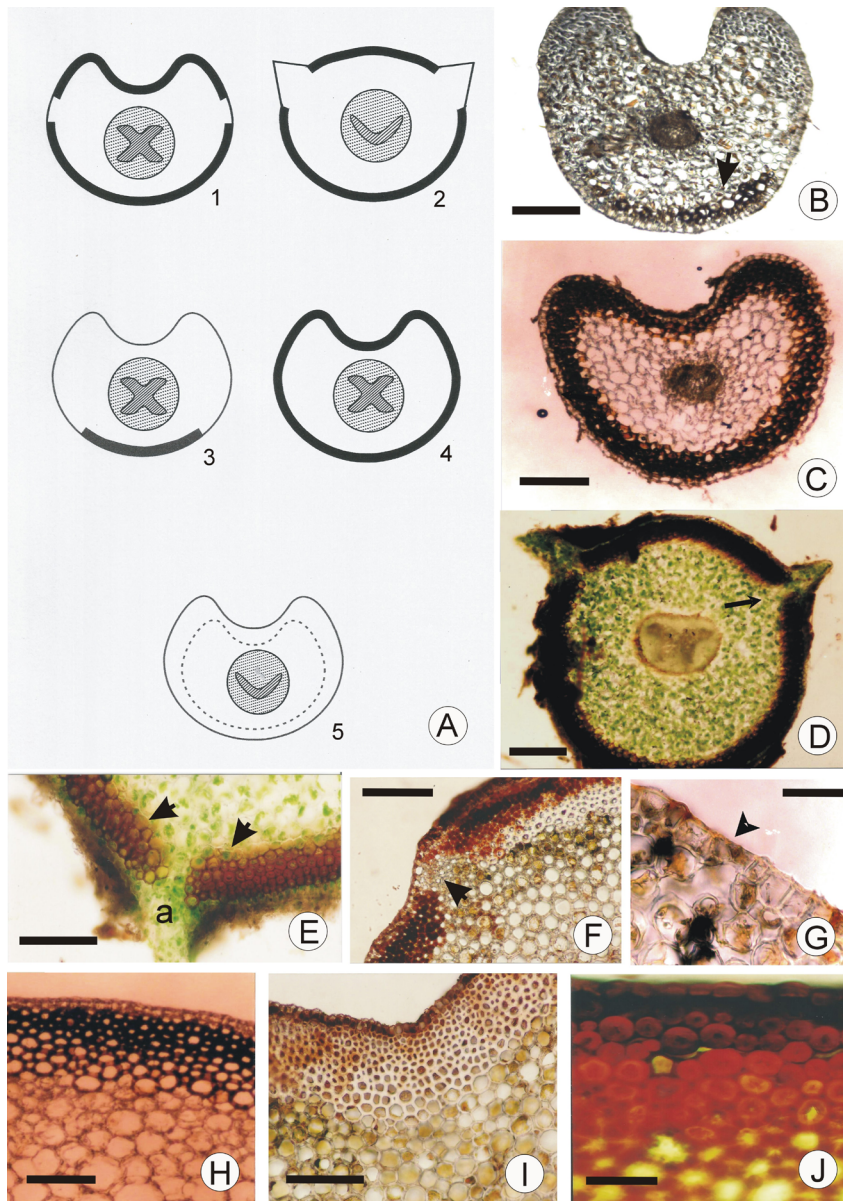
<i>Especie</i>	color	alas	TMS	BC	LA	P:L	Número haces zona basal	Contorno del xilema zona media	Hábito de la planta
<i>A. alatum</i>	castaño oscuro	p	c (interrumpido en alas)	—	p	1/2	2	X	E S
<i>A. argentinum</i>	castaño oscuro	p	c (interrumpido en alas)	—	—	1/3	2	X	T S
<i>A. auriculatum</i>	verde grisáceo	—	—	(GCE)	—	1/3	2	V	E S
<i>A. auritum</i>	verde	p	c (interrumpido en alas)	—	p	1/1	1	U	E S
<i>A. balansae</i>	castaño	—	a	(GCE)	—	1/1	2	X	T
<i>A. brasiliense</i>	castaño	p	—	GCE	—	1:6/20	2	X	T
<i>A. clausenii</i>	castaño	p	c (interrumpido en alas)	—	—	1/3	2	X	T
<i>A. cuspidatum</i>	castaño	p	c (interrumpido en las alas)	GCE	p	1:2/3	2	U	E T
<i>A. daeroides</i>	castaño oscuro	—	a	—	p	1:4/6	2	X	E S T
<i>A. depauperatum</i>	castaño oscuro	p	c (interrumpido en las alas)	(GCE)	—	1:10/15	2	X	T S
<i>A. formosum</i>	castaño oscuro	p	c (interrumpido en las alas)	p	—	1/4 1/10	2	X	E S
<i>A. gastonis</i>	verde-castaño	p	c (interrumpido en las alas)	GCE	p	1/2	2	V	E S
<i>A. gilliesii</i>	verde-castaño	—	—	—	—	1:4/5	2	X	T
<i>A. harpeodes</i>	castaño oscuro	p	c (interrumpido en las alas)	—	—	1:3/4	2	X	E T
<i>A. inaequilaterale</i>	verde-castaño	p	a	p	—	1:2 o menor	2	X	T
<i>A. kunzeanum</i>	verde-castaño	p	c (interrumpido en las alas)	p	—	1/2	2	X	T E
<i>A. lilloanum</i>	castaño oscuro	p	c (interrumpido en las alas)	p	—	1/10	2	X	S
<i>A. lorentzii</i>	verde-castaño	p	c (interrumpido en las alas)	—	p	1/10	2	X	S
<i>A. monanthes</i>	castaño oscuro lustroso	—	c	—	—	1/5	2	X	S E
<i>A. mucronatum</i>	castaño claro	—	a	—	—	1:10/15	2	X	E
<i>A. palmeri</i>	castaño oscuro lustroso	p	c (interrumpido en las alas)	x	—	1/20	2	V	S
<i>A. papaverifolium</i>	castaño claro	—	c	GCE	—	1/2	2	X	T S
<i>A. praemorsum</i>	castaño oscuro lustroso	—	c	—	p	1:3/4	2	X	E S
<i>A. pulchellum</i>	verde-castaño lustroso	p	c (interrumpido en las alas)	p	p	1/7	2	X	E S
<i>A. pumilum</i>	castaño	p	c (interrumpido en las alas)	GCE	p	1/1	2	V	T
<i>A. resiliens</i>	castaño oscuro lustroso	p	c (interrumpido en las alas)	p	—	1/6	2	X	S
<i>A. scandicinum</i>	verde-castaño	p	c (interrumpido en las alas)	—	—	1/6	2	X	E
<i>A. sellowianum</i>	castaño	p	c (interrumpido en las alas)	p	p	1:4/5	2	X	T S
<i>A. serra</i>	castaño oscuro	—	c	—	p	1:3/4	2	V	T E S

Tabla 1. Continuación.

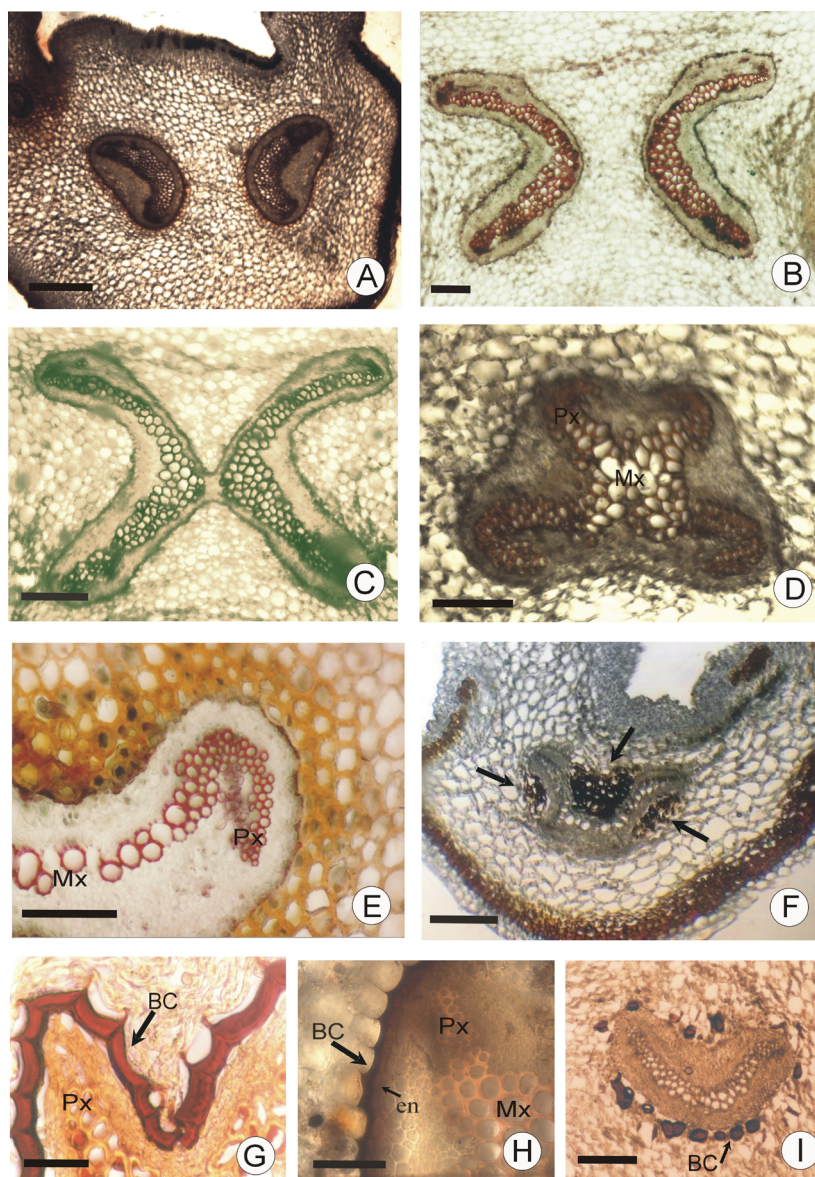
Especie	color	alas	TMS	BC	LA	P:L	Número haces zona basal	Contorno del xilema zona media	Hábito de la planta
<i>A. serratum</i>	verde-castaño	—	c	p	p	1/10	2	X	E
<i>A. squamosum</i>	verde-castaño	p	c (interrumpido en las alas)	—	p	1/2	2	X	T
<i>A. trilobum</i>	verde	—	c	—	—	1/2	2	X	E
<i>A. thriphyllum</i>	castaño oscuro	—	c	p	—	1/2	2	V	T
<i>A. ulbrichtii</i>	verde-castaño	p	c (interrumpido en las alas)	—	p	1:8/10	2	X	T
<i>A. uniseriale</i>	castaño oscuro lustroso	—	c	p	—	1:2/3	2	X	T



**Fig. 1. A-F.** Morfología del peciolo. **A:** peciolos oscuros brillosos, erectos (*A. argentinum*). **B:** peciolos verdosos péndulos (*A. praemorsum*). **C-E:** indumento del peciolo. **C:** escamas lanceoladas (flecha) (*A. squamosum*). **D:** Escama lanceolada (flecha), con margen ciliado y ápice piliforme, clatrada (en detalle) (*A. squamosum*). **E:** escama filiforme (*A. pumilum*). **F:** peciolo alado (flechas) (*A. alatum*). Escalas= A-B: 10 cm; C: 1 mm; D-E: 0.25 mm; F: 1 cm.



**Fig. 2. A-J.** Tejido mecánico subepidérmico, líneas de aireación y haces vasculares. **A:** esquemas de los tipos de ubicación del tejido mecánico (punteado o relleno negro) en sección transversal. 1: tejido mecánico interrumpido en líneas de aireación (punteado). 2: tejido mecánico interrumpido en las alas. 3: tejido mecánico abaxial. 4: tejido mecánico continuo 5: células parenquimáticas con paredes engrosadas (punteado). En 2 y 5 se observa el contorno del xilema en forma de "V"; en 1-3 y 4 en forma de "X". **B-D:** fotomicrografías con MO. **B:** CT de pecíolo con tejido mecánico limitado al lado abaxial (flecha) (*A. dareoides*). **C:** CT de pecíolo con surco adaxial y tejido mecánico continuo (flecha) (*A. uniseriale*). **D:** CT de pecíolo con alas y tejido mecánico interrumpido en las alas (flecha) (*A. lorentzii*). **E:** detalle del tejido mecánico interrumpido a nivel de las alas (flechas) (*A. ulbrichtii*). **F:** líneas de aireación (flecha) (*A. praemorsum*). **G:** estoma (punta de flecha) a la altura de la línea de aireación (*A. dareoides*). **H:** tejido subepidérmico continuo formado por células parenquimáticas con paredes engrosadas (*A. scandicinum*). **I:** tejido subepidérmico continuo formado por varias capas de tejido esclerenquimático (*A. praemorsum*). **J:** detalle de células del tejido esclerenquimático (*A. serra*). Escalas= B-D: 0.5 mm; E, J: 100µm; F, I: 150 µm; G: 20 µm; I: 150 µm. Abreviatura: a: ala.



**Fig. 3. A-I.** Vascularización del peciolo y banda circumentodermal. **A:** sección transversal de la base del peciolo donde se observan dos haces vasculares de contorno ovalado y xilema en forma de “C” (*A. squamosum*). **B:** ídem mostrando dos haces vasculares en forma de “C”, al igual que el xilema (*A. achalense*). **C:** sección transversal de la zona media del peciolo con un haz vascular en forma de “X” y xilema en forma de “C” (*A. achalense*). **D:** ídem con un haz vascular en forma de “X” y xilema en forma de “hipocampo” (*A. scandicinum*). **E:** detalle de haz vascular con xilema en forma de “hipocampo” (*A. serra*). **F:** sección transversal de la base del peciolo con un solo haz en forma de “U” al igual que el xilema, sin banda circumentodermal, con grupos de células esclerenquimatosas alrededor del haz (flechas) (*A. auritum*). **G:** detalle de la banda circumentodermal conformada por células con paredes tangenciales internas fuertemente engrosadas (flecha) (*A. pulchellum*). **H:** detalle de banda circumentodermal conformada por células con paredes tangenciales internas levemente engrosadas (*A. clausenii*). **I:** sección transversal de la zona media del peciolo con banda circumentodermal interrumpida y haz en forma de “V” (*A. serratum*). Escalas= A, B, D: 200 µm; C: 250 µm; E, I: 150 µm; F: 300 µm; G-H: 100 µm. Abreviaturas: Mx= metaxilema; Px= Protoxilema; BC= banda circumentodermal; en= endodermis.



## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La morfología de los pecíolos brinda caracteres para la identificación de grupos de especies entre los taxones de *Asplenium* aquí analizados, resultando diagnósticos el color, la longitud y la presencia/ausencia de alas y su desarrollo. En la clave de identificación de las especies de *Asplenium* que crecen en Argentina presentada por Ganem *et al.* (2016), el carácter color del pecíolo permitió diferenciar grupos de especies con lámina 1-pinnada. En cuanto a las alas, este rasgo fue utilizado para segregar especies con láminas enteras o con alto grado de división (3-pinnadas). Particularmente, el grado de desarrollo de las alas permite la identificación de *A. alatum* entre las especies analizadas.

En cuanto a la anatomía del pecíolo, los caracteres que resultan diagnósticos para las especies analizadas son: el tipo de tejido subepidérmico (parenquimático o esclerenquimático) y su disposición, la presencia o ausencia de la banda circumdodermal y sus características, y el número y contorno de los haces vasculares. El tejido mecánico subepidérmico está ausente en tres de los taxones analizados: *A. auriculatum*, *A. brasiliense* y *A. gilliesii*. En el caso de *A. auriculatum*, nuestras observaciones coinciden con las de Wetzel *et al.* (2017). En las restantes especies este tejido puede disponerse de forma continua o solo en la zona abaxial, como en *A. absscisum*, *A. auritum*, *A. balansae*, *A. inaequilaterale*, *A. mucronatum*, cuyos pecíolos son verdosos a castaños, y en *A. daeroides* donde los pecíolos son castaño oscuros.

De acuerdo a Lin & De Vol (1977b) las líneas de aireación se presentan solo en pecíolos verdes y no alados, pero en este trabajo han sido observadas en pecíolos con otras coloraciones y también en alados, como *A. achalense*, *A. alatum* y *A. squamosum*, entre otros. Se infiere así que no hay una relación estrecha entre el color del pecíolo, el desarrollo de las alas y las líneas de aireación.

La banda circumdodermal (BC), ubicada en la zona más interna de la corteza de los pecíolos, es característica de varias familias de helechos (Hernández-Hernández *et al.*, 2012). Esta consiste en células con paredes engrosadas no lignificadas (compuestas de celulosa y taninos), con el mismo origen que la endodermis pero sin depósitos de suberina ni lignina. Su función principal es la

protección contra agentes patógenos (por contener en sus paredes taninos y fenoles), y como soporte biomecánico, otorgándole flexibilidad al no estar lignificada (Hernández-Hernández *et al.*, 2012). En el presente trabajo, la BC fue observada en varias de las especies analizadas (*A. absscisum*, *A. formosum*, *A. inaequilaterale*, *A. kunzeanum*, *A. lilloanum*, *A. palmeri*, *A. pulchellum*, *A. resiliens*, *A. sellowianum*, *A. serratum*, *A. triphyllum*, *A. uniseriale*), formando un anillo continuo o discontinuo. En aquellos pecíolos sin BC se registra un tejido mecánico sub-epidérmico esclerenquimático, probablemente cumpliendo la función biomecánica de resistencia, como lo proponen Hernández-Hernández *et al.* (2012). Wetzel *et al.* (2017) mencionaron que la BC está ausente en *A. auriculatum* y *A. kunzeanum*, sin embargo la misma fue observada en este trabajo.

Se ha asociado la presencia de BC continua con especies con frondes grandes, y la de una BC discontinua o ausente en aquellas con láminas reducidas, menos divididas (Hernández-Hernández *et al.*, 2012). Sin embargo, en las especies de *Asplenium* aquí estudiadas, la misma aparece tanto en pecíolos de láminas 1-pinnadas como en aquellas con láminas 3-pinnadas, e igualmente en frondes pequeñas como más desarrolladas.

En casi la totalidad de las especies analizadas se registraron dos haces vasculares en la base de los pecíolos, los cuales se unen en la porción media. Sólo en *A. auritum* se observó un único haz vascular, con el xilema dispuesto en forma de U, en coincidencia con lo hallado por Wetzel *et al.* (2017). Khare & Shankar (1989) encontraron otros patrones de vascularización de los pecíolos, como el de *A. varians* que presenta un solo haz con dos bandas xilemáticas que se unen distalmente, o el de *A. dalhousiae* y *A. laciniatum*, cuyos pecíolos poseen dos haces que corren libremente sin unirse a lo largo del mismo. Estos patrones no fueron observados en las especies analizadas aquí.

En la porción basal de los pecíolos, las bandas xilemáticas mostraron en general forma de C u ovalada, excepto en *A. scandicinum*, *A. serra* y *A. squamosum*, donde estas presentaron forma de hipocampo. Según Ogura (1972) y Lin & Devol (1977a, b) esta disposición del xilema en los haces no estaría presente en los pecíolos de *Asplenium*, sin embargo la misma fue reportada previamente por Ganem *et al.* (2007) para *A. pseudonitidum* y *A. squamosum* y por Wetzel *et al.* (2017) para *A.*

*oligophyllum* y corroborada en el presente trabajo, incluyendo su presencia en *A. scandicinum* y *A. serra*.

En la mayoría de las especies analizadas el xilema se une en la porción distal del pecíolo formando una X, excepto en *A. auriculatum*, *A. gastonis*, *A. palmeri*, *A. pumilum*, *A. serra* y *A. triphyllum* donde la configuración del xilema es en forma de V, y en *A. auritum* y *A. cuspidatum*, donde éste se dispone formando una U. Ganem *et al.* (2007) y Wetzel *et al.* (2017) reportaron las mismas configuraciones para *A. achalense*, *A. auriculatum* y *A. squamosum*, resultando novedosa la información para el resto de las especies estudiadas en el presente trabajo. Nuestras observaciones en *A. serra* no coinciden con las de Wetzel *et al.* (2017), quienes mencionan que en este taxón los haces se unen distalmente formando un único haz en forma de U.

La anatomía general del pecíolo no evidenció relación con el hábito de las plantas, coincidiendo de esta manera con lo expresado por Hernández-Hernández *et al.* (2012), quienes incluyeron en su estudio distintos grupos de helechos. Así, la BC se observa tanto en especies epífitas como terrestres, coincidiendo con los citados autores.

En general se observa que tanto la BC como el tejido mecánico subepidérmico están siempre presentes en aquellas especies que viven en ambientes expuestos y más secos. Sin embargo, la BC se observa también en algunas que crecen en ambientes húmedos, por lo que tampoco se puede relacionar la presencia de la BC con el ambiente donde habitan las plantas.

De acuerdo a lo aquí observado se pueden encontrar dentro de las Aspleniaceae todos los estados de desarrollo de la BC, desde continua hasta su ausencia total. Estas variaciones podrían reflejar diferentes etapas evolutivas, como lo proponen Hernández-Hernández *et al.* (2012) para las Thelypteridaceae, con la discontinuidad como etapa intermedia, hacia la pérdida total secundaria de la BC. Futuros estudios filogenéticos moleculares en estas especies permitirían dilucidar esta cuestión.

Dada la elevada cantidad de especies contenidas en *Asplenium* (unas 700), futuros estudios anatómicos en otros taxones, junto con análisis moleculares, contribuirán a seguir esclareciendo cuestiones sistemáticas en este género.

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

MAG, MLL y GEG han realizado conjuntamente y a partes iguales la colecta de datos, su interpretación y redacción del manuscrito. OA participó en la escritura del manuscrito.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las Instituciones que aportaron el material y a la UNLP y UNJu por los subsidios recibidos para que este estudio pudiera llevarse a cabo (Proyectos UNLP 11/N610 y 11/N725; UNJu 08/A115 y 08/A165).

## BIBLIOGRAFÍA

- D'AMBROGGIO DE ARGÜESO, A.M. 1986. *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- GABANCHO, L.R. & C. PRADA. 2011. The genus *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) in Cuba, including new combinations for the neotropical species. *Amer. Fern J.* 101: 265-281.  
<https://doi.org/10.1640/0002-8444-101.4.265>
- GANEM, M.A., G.E. GIUDICE, M.L. LUNA & E.R. DE LA SOTA. 2007. Revisión del grupo *Asplenium squamosum* en América. *Candollea* 62: 149-156.
- GANEM, M.A., M.D. ARANA, M.L. LUNA, O. AHUMADA & G.E. GIUDICE. 2014. Primer registro de *Asplenium harpeodes* (Aspleniaceae) para la flora Argentina. *Darwiniana, nueva serie* 2: 237-242.  
<https://doi.org/10.14522/darwiniana/2014.22.602>
- GANEM, M.A., G. E. GIUDICE & M. L. Luna. 2016. *Asplenium* L. In: ZULOAGA, F & M. BELGRANO (eds.). PONCE, M. M. & M. ARANA (coords.), *Flora Vascular de la República Argentina. Vol. 2. Licofitas, Helechos, Gymnospermae*, pp. 54-76. Estudio Sigma, Buenos Aires.
- GIUDICE, G. E., M.A. MORBELLI & M. R. PIÑEIRO. 2002. Palynological study in Aspleniaceae from North-west Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 37: 217-229.
- GIUDICE G.E., M.L. LUNA & M.A. GANEM. 2013. El género *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) en Argentina. *Darwiniana nueva serie* 1: 46-53.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, V., T. TERRAZAS, K. MEHLTRETER & G. ANGELES. 2012. Studies of petiolar anatomy in ferns: structural diversity and systematic significance of the circundodermal band. *Bot. J. Linn. Soc.* 169: 596-610.  
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01236.x>

## María A. Ganem *et al.* - Morfología y anatomía de pecíolos de *Asplenium*

- KATO, M. 1972. The vascular structure and its taxonomic significance in the Athyriaceae. *Acta Phytotax. Geobot.* 25: 79-91.
- KEATING, G. O. 1968. Trends of specialization in the stipe anatomy of *Dennstaedtia* and related genera. *Amer. Fern J.* 58: 76-140.  
<https://doi.org/10.2307/1546552>
- KHARE, P. K. & R. SHANKAR. 1989. On the petiolar structure of some *Asplenium* species. *Can. J. Bot.* 67 (1): 95-103. <https://doi.org/10.1139/b89-014>
- LIN, B. L. & C.E. DE VOL. 1977a. The use of stipe characters in ferns taxonomy. I. *Taiwania* 22: 91-99.
- LIN, B. L. & C.E. DE VOL. 1977b. The use of stipe characters in ferns taxonomy. II. *Taiwania* 23: 88-95.
- OGURA, Y. 1972. Comparative anatomy of vegetative organs of the Pteridophytes. In: Zimmermann, W. & P. G. Ozenda (eds.). *Handbuch der pflanzenanatomie*, Berlin, Gebrüder Borntraeger.
- PONCE, M. M. 1996. Pteridophyta. In: ZULOAGA, F. O. & O. MORRONE (eds), *Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina*, Parte I. Monographs of Systematic Botany, *Missouri Botanical Garden* 60: 1-79.
- SCHNEIDER, H. 1997. Root anatomy of Aspleniaceae and the implications for systematics of this fern family. *Fern Gaz.* 15: 160-168.
- SMITH, A. R. 1981. *Asplenium*. In: BREEDLOVE, D. E. *Flora of Chiapas*. Part 2: Pteridophyta. pp. 35-58.
- TRYON, R. M. & R. G. STOLZE. 1993. Pteridophyta of Perú. Part IV: Aspleniaceae-Polypodiaceae. *Fieldiana (Bot.)* 32: 1-190.
- UMIKALSOM, Y. 1992. Anatomical studies of the Malasyan Aspleniaceae and Athyriaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 110: 111-119.  
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1992.tb00285.x>
- WETZEL, M. L. R., L. D. S. SYLVESTRE, C. F. BARROS & R. C. VIEIRA. 2017. Vegetative Anatomy of Aspleniaceae Newman from Brazilian Atlantic rainforest and its application in taxonomy. *Flora* 233: 118-126.  
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.05.010>
- ZARLAVSKY, G. E. 2014. *Histología Vegetal. Técnicas simples y complejas*. pp 1-198 Soc. Argentina de Botánica, Buenos Aires.

