



Es el órgano de difusión de la Sociedad Argentina de Botánica encargado de editar trabajos científicos originales, revisiones y reseñas en todas las ramas de la biología vegetal y de los hongos. Se edita un volumen anual con cuatro entregas trimestrales. Los trabajos son sometidos a un sistema de arbitraje antes de ser aceptados. Las instrucciones a los autores pueden consultarse en las siguientes páginas en Internet. Authors instructions can be consulted on the following web pages: <http://www.botanicaargentina.org.ar> y <http://revistas.unc.edu.ar/index.php/BSAB>

El Boletín está incorporado al Núcleo Básico de revistas científicas argentinas y Scielo (Scientific Electronic Library On Line) y es citado en Science Citation Index Expanded, Current Contents (Agriculture, Biology & Environmental Sciences), Scopus, AGRICOLA, Index to American Botanical literature, Periódica, Latindex, Excerpta Botanica, The Kew Record of Taxonomic Literature, CAB (Center for Agriculture and Bioscience International), Biosis Previews, Biological Abstracts.

Directora

JOSEFINA BODNAR. Museo de La Plata, La Plata. jbodnar@fcnym.unlp.edu.ar

Vicedirector

DIEGO GUTIÉRREZ. Museo Argentino de Ciencias Nat. Bernardino Rivadavia, CABA. digutier@macn.gov.ar

Editores Asociados

Biología Floral: GABRIEL BERNARDELLO. Inst. Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba, Argentina.

Briología: JUAN B. LARRAIN. Pontificia Univ. Católica de Valparaíso, Chile. GUILLERMO SUAREZ. Inst. Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

Ecología y Conservación: NATALIA AGUIRRE. Grupo de Investigación en Biodiversidad y Recursos Naturales, Colombia. KARINA L. SPEZIALE. INIBIOMA, San Carlos de Bariloche. Argentina.

Etnobotánica: NORMA I. HILGERT. Inst. de Biología Subtropical, Puerto Iguazú, Misiones, Argentina. MANUEL PARDO DE SANTAYANA. Univ. Autónoma de Madrid, España.

Ficología: SYLVIA BONILLA. Facultad de Ciencias, Univ. de la República, Montevideo, Uruguay.

Fisiología: FEDERICO MOLLARD. Univ. de Buenos Aires, Argentina.

Fitoquímica: MARÍA PAULA ZUNINO. Univ. Nacional de Córdoba, IMBIV, Córdoba, Argentina.

Genética y Evolución: PAOLA GAIERO. Fac. de Agronomía, Univ. de la República, Uruguay.

Micología: LEOPOLDO IANONNE. Univ. de Buenos Aires, Bs. As., Argentina. MARÍA VICTORIA VIGNALE. Inst. Biotecnología de Misiones (InBioMis) e Inst. Misionero de Biodiversidad (IMiBio), Misiones Argentina.

Morfología y Anatomía: ANA MARÍA GONZALEZ. Inst. de Botánica del Nordeste, Corrientes, Argentina.

Paleobotánica: GEORGINA DEL FUEYO. Museo Arg. Cs. Nat. Bernardino Rivadavia, Bs. As., Argentina.

Palinología: GONZALO J. MARQUEZ. Univ. Nacional de La Plata, Bs. As., Argentina.

Plantas Vasculares: CAROLINA I. CALVIÑO. Univ. Nacional del Comahue, Bariloche, Río Negro, Argentina. FRANCO E. CHIARINI. Inst. Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba, Argentina. DIEGO GUTIÉRREZ. Museo Arg. Cs. Nat. Bernardino Rivadavia, CABA, Argentina. OLGA G. MARTINEZ. Univ. Nacional de Salta, Argentina. ROBERTO M. SALAS. Inst. de Botánica del Nordeste, Corrientes, Argentina.

Secretaría de Edición

ADRIANA PEREZ. Inst. Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba.

Asesores Editoriales

Anatomía: NANUZA LUIZA DE MENEZES. Univ. Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil.

Biología Reproductiva: MARCELO AIZEN. Univ. Nacional del Comahue, Bariloche, Río Negro.

Briología: DENISE PINHEIRO DA COSTA. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

Ecología: MARCELO CABIDO. Inst. Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba.

Etnobotánica: PASTOR ARENAS. CEFYBO, Univ. de Buenos Aires.

Ficología: LEZILDA CARVALHO TORGAN. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

Genética y Evolución: LIDIA POGGIO. Univ. de Buenos Aires.

Micología: MARIO RAJCHENBERG. Centro de Inv. y Extensión Forestal Andino Patagónico, Esquel, Chubut.

Paleobotánica y Palinología: MARTA MORBELLI. Univ. Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires.

Plantas Vasculares: CECILIA EZCURRA. Univ. Nacional del Comahue, Bariloche, Río Negro. JEFFERSON PRADO. Inst. de Bot., San Pablo, Brasil. FERNANDO ZULOAGA. Inst. Bot. Darwinion, San Isidro, Buenos Aires.

Sistemática Filogenética: PABLO GOLOBOFF. Fundación Miguel Lillo, Tucumán.

El Boletín es propiedad de la Sociedad Argentina de Botánica. Domicilio legal: Av. Angel Gallardo 470 CABA.

© Sociedad Argentina de Botánica. Córdoba. Inst. Multidisciplinario de Biología Vegetal, Av. Vélez Sarsfield 299, 5000 Córdoba, Argentina.

Queda hecho el depósito que establece la ley 11.723. Inscripción en el Registro de la Propiedad Intelectual: en trámite.

Fecha de Distribución: 30 de Septiembre de 2024.

NÚMERO ESPECIAL: NUEVAS TENDENCIAS EN EL ESTUDIO DE HELECHOS Y LICOFITAS NEOTROPICALES: MIRADAS MULTIDISCIPLINARIAS PARA SU CONOCIMIENTO Y CONSERVACIÓN

Agustina Yañez^{1*} , Gonzalo J. Marquez²  & Olga G. Martinez³ 

Editores invitados

1. Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (MACN-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
2. División Paleobotánica, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.
3. Facultad de Ciencias Naturales-IBIGEO-CONICET, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina

*gugu@macn.gov.ar

Este año se cumple el décimo aniversario del fallecimiento del Dr. Elías Ramón De La Sota, quien no sólo sentó las bases del estudio de los helechos y licofitas en Argentina, sino que fue un referente para la disciplina en toda América Latina. Por este motivo, propusimos a las autoridades de la Sociedad Argentina de Botánica realizar un número especial a quien fuera nuestro maestro. A 10 años de su partida, es inspirador ver su legado plasmado en la calidad y cantidad de los artículos publicados aquí, reflejo fiel de las investigaciones llevadas adelante actualmente por los científicos y científicas de la región.

Los helechos y las licofitas cuentan con alrededor de 12.000 especies (PPG I, 2016) y se encuentran entre los grupos de plantas vasculares más carismáticos, debido a su fascinante historia evolutiva, su rol en los ecosistemas pasados y presentes, sus estrategias de propagación y dispersión, sus características morfológicas y fisiológicas, y sus no tan explorados usos tradicionales (Keller & Prance, 2015; Gómez-Noguez *et al.*, 2017). Estas plantas representan un importante componente de la flora del Neotrópico, donde se encuentran 4 de los 8 *hotspots* mundiales de riqueza de especies (Suissa *et al.* 2020): Mesoamérica, Guyanas, Andes tropicales y sudeste de Brasil. Cabe destacar que muchas especies son particularmente vulnerables a la modificación y pérdida acelerada de hábitats naturales y a los cambios en distintas variables climáticas producto de la acción directa o indirecta del ser humano (Arana *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2018), lo que pone en peligro su supervivencia, aunque también pueden convertirlas en buenos indicadores ambientales. Por este motivo, las investigaciones sobre helechos y licofitas en esta región del planeta cobran especial relevancia, tanto en la carrera contra el tiempo por conocer y conservar, como por la necesidad de tener información confiable para realizar un manejo sostenible del recurso.

En este marco, si bien el estudio de estos grupos continúa siendo abordado desde disciplinas tradicionales, como la sistemática y la taxonomía, observamos un notable incremento en investigaciones enfocadas desde áreas complementarias. En particular, la anatomía y la palinología han ganado relevancia en los últimos tiempos, tanto para comprender fenómenos ontogenéticos y fisiológicos, como para aportar caracteres adicionales a la reinterpretación de las relaciones filogenéticas sugeridas por los análisis moleculares (Testo & Sundue, 2016). Asimismo, creció el interés por explorar las interacciones de los helechos con otros organismos, como en el caso de las simbiosis con hongos micorrízicos y endófitos, lo que revela complejas redes ecológicas que contribuyen a su éxito en diversos ambientes (Lehnert & Kessler, 2016). Finalmente, la identificación de rasgos funcionales ha ganado relevancia, mostrando la importancia de estos grupos como bioindicadores ambientales y demostrando su potencial para monitorear la calidad de los ecosistemas y responder a cambios ambientales. Este enfoque interdisciplinario está ampliando el conocimiento sobre estas plantas, vinculando sus características biológicas con su papel ecológico y aplicaciones prácticas.

Los trabajos presentados en este número especial abarcan todo el abanico de disciplinas mencionadas, abordando desde distintas aristas la diversidad y adaptación de los helechos y licofitas en distintos ambientes neotropicales. Este conjunto de investigaciones refleja el dinamismo y la complejidad de los estudios sobre helechos y licofitas en el área de estudio, ofreciendo nuevas perspectivas tanto para la conservación como para la gestión sostenible de los ambientes en los cuales habitan:

Diversidad taxonómica y nuevas especies: Los artículos de Hirai *et al.* y Valdespino *et al.* amplían nuestro conocimiento de la riqueza en el área de estudio, particularmente en Brasil. En el primer caso se presenta, a partir de nuevas evidencias morfológicas, una re-evaluación de la taxonomía del género *Pteris* para el país, reconociendo cuatro registros no citados previamente; en el segundo caso, los autores describen una nueva especie de *Selaginella* para la ciencia.

Anatomía, palinología y evidencia filogenética: Los estudios anatómicos en pecíolos de especies mexicanas de *Polypodiaceae* (**Luis-Enríquez et al.**) y raíces de helechos Cheilanthoideos (**Hernandez et al.**) ponen de manifiesto la importancia que tienen este tipo de caracteres en la comprensión de la evolución de los helechos. Asimismo, el artículo de **Macluf et al.** resalta la enorme utilidad que posee la palinología en el estudio de las licofitas.

Interacciones ecológicas y microbiológicas: Los estudios sobre los endófitos fúngicos en helechos medicinales de San Luis (**Torres et al.**) y la descripción de micorrizas arbusculares en especies de *Thelypteridaceae* de las Yungas tucumanas (**Romagnoli et al.**) demuestran la importancia que las interacciones subterráneas poseen en el desarrollo y adaptación de muy distintos grupos de helechos.

Propagación ex-situ: La investigación de **Martinenco et al.** sobre la viabilidad de esporas luego de su almacenamiento a bajas temperaturas, abre la posibilidad para futuras investigaciones sobre conservación *ex-situ* de especies que habitan ecosistemas susceptibles a degradación.

Distribución y conservación: Los artículos de **Marquez et al.**, en el Paisaje Protegido “Cerro Mbororé” (Misiones, Argentina) y **Sottile et al.**, en las sierras de Tandilia (Buenos Aires, Argentina), muestran la importancia de los sistemas serranos como fuentes de microhábitats para distintos grupos de helechos y licofitas, siendo verdaderas “islas” de diversidad para estos grupos. Por su parte, **Murillo et al.** analizan de qué manera variables como la química del suelo y la estructura de la vegetación afectan la composición y diversidad de estas plantas en los bosques subandinos de los Andes del Norte.

Aplicaciones prácticas: Finalmente, el estudio de **Tabernerero et al.** sobre la fitorremediación con *Salvinia minima*, ilustra cómo algunas especies de helechos pueden tener aplicaciones directas en la restauración ambiental, abordando problemas contemporáneos como la contaminación por metales pesados.

SPECIAL ISSUE: NEW TRENDS IN THE STUDY OF NEOTROPICAL FERNS AND LYCOPHYTES: MULTIDISCIPLINARY PERSPECTIVES FOR THEIR KNOWLEDGE AND CONSERVATION

This special issue is dedicated to Dr. Elías Ramón De La Sota, who not only laid the foundation for the study of ferns in Argentina but also became a leading figure in the discipline throughout Latin America. Ten years after his passing, it is inspiring to see the quality of research conducted by scientists in the region reflected in the articles published here.

Ferns and lycophytes comprise around 12,000 species (PPG I, 2016) and are among the most charismatic groups of vascular plants due to their fascinating evolutionary history, their role in past and present ecosystems, their propagation and dispersal strategies, their morphological and physiological characteristics, and their not-so-well-explored traditional uses (Keller & Prance, 2015; Gómez-Noguez *et al.*, 2017). These plants represent an important component of the Neotropical flora, where four of the eight global species richness hotspots are found (Suissa *et al.*, 2020): Mesoamerica, the Guianas, the tropical Andes, and southeastern Brazil. It is important to highlight that many species are particularly vulnerable to the modification and accelerated loss of natural habitats, as well as to changes in various climatic variables resulting from the direct or indirect actions of humans (Arana *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2018), which threatens their survival. However, this vulnerability can also make them good environmental indicators. For this reason, research on ferns and lycophytes in this region of the planet is of special relevance, both in the race against time to understand and conserve these species, and in the need for reliable information to manage the resource sustainably.

In this context, although the study of these groups continues to be approached from traditional disciplines, such as systematics and taxonomy, there has been a notable increase in research focused on complementary fields. In particular, anatomy and palynology have gained relevance in recent times, both for understanding ontogenetic and physiological phenomena and for providing additional characters to reinterpret the phylogenetic relationships suggested by molecular analyses (Testo & Sundue, 2016). Additionally, interest in exploring ferns' interactions with other organisms has grown, such as in the case of symbiosis with mycorrhizal and endophytic fungi, revealing complex ecological networks that contribute to their success in various environments (Lehnert & Kessler, 2016). Finally, the identification of functional traits has acquired significance, highlighting the relevance

of these groups as environmental bioindicators and demonstrating their potential to monitor ecosystem quality and respond to environmental changes. This interdisciplinary approach is expanding the knowledge about these plants, linking their biological characteristics with their ecological roles and practical applications.

The articles presented in this special issue cover the full spectrum of the mentioned disciplines, addressing from different angles the diversity and adaptation of ferns and lycophytes in various Neotropical environments. This collection of research reflects the dynamism and complexity of studies on ferns and lycophytes in the study area, offering new perspectives both for conservation and for the sustainable management of the environments they inhabit:

Taxonomic diversity and new species: The articles by **Hirai *et al.*** and **Valdespino *et al.*** expand our knowledge of the richness in the study area, particularly in Brazil. The former presents a reevaluation of the taxonomy of the genus *Pteris* in the country, based on new morphological evidence, recognizing four previously unrecorded species; the latter describes a new species of *Selaginella* to science.

Anatomy, palynology, and phylogenetic evidence: Anatomical studies on the petioles of Mexican species of Polypodiaceae (**Luis-Enriquez *et al.***) and the roots of Cheilanthoid ferns (**Hernández *et al.***) highlight the importance of these characters in understanding fern evolution. Similarly, the article by **Macluf *et al.*** underscores the enormous utility of palynology in the study of lycophytes.

Ecological and microbiological interactions: The studies on fungal endophytes in medicinal ferns from San Luis (**Torres *et al.***) and the description of arbuscular mycorrhizae in species of *Thelypteridaceae* from the Tucumán Yungas (**Romagnoli *et al.***) demonstrate the importance of underground interactions in the development and adaptation of diverse groups of ferns.

Ex-situ propagation: The research conducted by **Martinenco *et al.*** on spore viability after storage at low temperatures provides valuable information as a basis for future research on *ex-situ* conservation of species that inhabit ecosystems susceptible to degradation.

Distribution and conservation: The articles by **Márquez *et al.***, in the “Cerro Mbororé” Protected Landscape (Misiones, Argentina) and **Sottile *et al.***, in the Tandilia Hills (Buenos Aires, Argentina), show the importance of mountain systems as sources of microhabitats for various groups of ferns and lycophytes, serving as true “islands” of diversity for these groups. **Murillo *et al.*** analyze how variables such as soil chemistry and vegetation structure affect the composition and diversity of these plants in the sub-Andean forests of the Northern Andes.

Practical applications: Finally, the study by **Tabernerero *et al.*** about phytoremediation with *Salvinia minima* illustrates how some fern species can have direct applications in environmental restoration, addressing contemporary issues like heavy metal contamination.

BIBLIOGRAFÍA - BIBLIOGRAPHY

- ARANA, M. D., M. PONCE, J. J. MORRONE & A. J. OGGERO. 2013. Patrones biogeográficos de los helechos de las Sierras de Córdoba (Argentina) y sus implicancias en la conservación. *Gayana Bot.* 70: 358-377.
- GÓMEZ-NOGUEZ, F., L. M. LEÓN-ROSSANO, K. MEHLTRETER, A. OROZCO-SEGOVIA, I. ROSAS-PÉREZ & B. PÉREZ-GARCÍA. 2017. Experimental Measurements of Terminal Velocity of Fern Spores. *Amer. Fern J.* 107: 59-71.
- LEHNERT, M. & M. KESSLER. 2016. Mycorrhizal Relationships in Lycophytes and Ferns. *Fern Gaz.* 20: 101-116.
- PPG I. 2016. A Community-Derived Classification for Extant Lycophytes and Ferns. *J. Syst. Evol.* 54: 563-603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>.
- KELLER, H. A. & G. T. PRANCE. 2015. *The Ethnobotany of Ferns and Fern Allies.* *Fern Gaz.* 20: 1-14.
- SILVA, V. L., K. MEHLTRETER & J. L. SCHMITT. 2018. Ferns as Potential Ecological Indicators of Edge Effects in Two Types of Mexican Forests. *Ecol. Indic.* 93: 669-676.
- SUISSA, J. S., M. A. SUNDUE & W. TESTO. 2021. Mountains, Climate and Niche Heterogeneity Explain Global Patterns of Fern Diversity. *J. Biogeog.* 48: 1296-1308.
- TESTO, W. & M. SUNDUE. 2016. A 4000-Species Dataset Provides New Insight into the Evolution of Ferns. *Mol. Phylogenet. Evol.* 105: 200-211.



Dr. Elías Ramón De La Sota (1932-2014)

ÍNDICE

HIRAI, R. Y., C. M. MYNSEN & J. PRADO New approaches in the fern genus <i>Pteris</i> (Pteridaceae) from Brazil. Nuevos enfoques en el género <i>Pteris</i> (Pteridaceae) de Brasil	259-272
LUIS-ENRÍQUEZ, S., A. MENDOZA-RUIZ, J. CEJA-ROMERO & E. VELÁZQUEZ-MONTES Anatomía del peciolo de 16 especies de Polypodiaceae presentes en México. ... Petiole anatomy of 16 species of Polypodiaceae from Mexico	273-298
MARTINENCO, M. L., M. D. ARANA & M. L. LUNA Spore viability of fern species of the genera <i>Amauropelta</i> , <i>Blechnum</i> , and <i>Physematum</i> from central Argentina after low temperature storage. Viabilidad de esporas de helechos de los géneros <i>Amauropelta</i> , <i>Blechnum</i> y <i>Physematum</i> del centro de Argentina luego del almacenamiento a baja temperatura	299-309
MACLUF, C. C., M. D. ARANA, G. E. GIUDICE & M. L. LUNA Estudio palinológico de las Licofitas (Lycopodiopsida) de las Sierras Pampeanas centrales de Argentina. Palynological study of the Lycophytes (Lycopodiopsida) from the Sierras Pampeanas centrales of Argentina	311-320
MURILLO-A., J. & L. A. TRIANA-MORENO Diversidad y distribución de los helechos y licófitos de un bosque subandino del norte de los Andes. Diversity and distribution of ferns and lycophytes from a sub-Andean forest in the northern Andes	321-334
ROMAGNOLI, G., M. D. ARANA & P. L. ALBORNOZ Micorrizas arbusculares y endófitos septados en tres especies de Thelypteridaceae de ambientes riparios de las Yungas (Tucumán, Argentina). Arbuscular mycorrhizae and septate endophytes in three species of Thelypteridaceae of riparian environments of the Yungas (Tucumán, Argentina)	335-343
SOTTILE, G. D., T. O'CONNOR, G. BURGOS HERRERA, C. P. WRAAGE & P. A. SUÁREZ Helechos y licofitas del sudeste del Sistema de Tandilia (Buenos Aires, Argentina): composición, afinidad biogeográfica y patrones de diversidad ecológica. Ferns and Lycophytes from the southeastern of Tandilia (Buenos Aires, Argentina): Composition, Biogeographical affinities and ecological diversity patterns	345-374
TORRES, M. L., E. M. CRESPO, M. C. CAROSIO & M. A. LUGO Hongos micorrícicos arbusculares y endófitos septados oscuros en raíces de helechos nativos de uso medicinal de las Sierras Centrales de San Luis, centro-oeste de Argentina. Arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes in roots of native medicinal ferns from "Sierras Centrales de San Luis", central-west Argentina	375-392

<p>VALDESPINO, I. A., C. A. LÓPEZ, J. I. CEBALLOS & J. M. PALACIOS <i>Selaginella pectopuellensis</i> (Selaginellaceae, Lycopodiophyta): a new species from Serra do Peito-de-Moça, Bahia, Brazil, with comments on the taxonomy of the species reported in the country.</p> <p><i>Selaginella pectopuellensis</i> (Selaginellaceae, Lycopodiophyta): una nueva especie de la Serra do Peito-de-Moça, Bahia, Brasil con comentarios sobre la taxonomía de las especies reportadas en el país</p>	<p>393-403</p>
<p>MARQUEZ, G. J., A. YAÑEZ & F. CASTÍA. 2024. Helechos y licofitas del Área Natural Protegida “Paisaje Protegido Cerro Mbororé” (Misiones, Argentina).</p> <p>Ferns and lycophytes from Protected Natural Area “Paisaje Protegido Cerro Mbororé” (Misiones, Argentina)</p>	<p>405-416</p>
<p>HERNÁNDEZ, M. A., O. G. MARTÍNEZ, M. A. SCATAGLINI & M. M. PONCE La anatomía de la raíz como evidencia filogenética para los helechos Cheilanthoides (Pteridaceae).</p> <p>Root anatomy as phylogenetic evidence for Cheilanthoid ferns (Pteridaceae)</p>	<p>417-432</p>
<p>TABERNERO, N. R., S. CHOCOBAR PONCE, C. PRADO & M. ROSA Fitorremediación con <i>Salvinia minima</i> (Salviniaceae): identificación de biomarcadores temporales durante la remoción de Cr(VI).</p> <p>Phytoremediation with <i>Salvinia minima</i> (Salviniaceae): identification of temporal biomarkers during Cr(VI) removal</p>	<p>433-447</p>



NEW APPROACHES IN THE FERN GENUS *PTERIS* (PTERIDACEAE) FROM BRAZIL

NUEVOS ENFOQUES EN EL GÉNERO *PTERIS* (PTERIDACEAE) DE BRASIL

Regina Y. Hirai^{1*}, Claudine M. Mynssen² & Jefferson Prado¹

1. Instituto de Pesquisas Ambientais (IPA), São Paulo, Brazil
2. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

*regina.hirai@gmail.com

Citar este artículo

HIRAI, R. Y., C. M. MYNSSEN & J. PRADO. 2024. New approaches in the fern genus *Pteris* (Pteridaceae) from Brazil. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 259-272.

 DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v59.n3.44498>

SUMMARY

Background and aims: *Pteris* is widely distributed with ca. 65 species in the Tropics. In Brazil, 24 species were recognized and five of them are endemic to the Atlantic Forest. The objective of the present paper is to re-evaluate the taxonomy of *Pteris* occurring in Brazil, based on new morphological evidence of old and recent specimens deposited in herbaria, analysis of types, and observations in the field.

M&M: The new approaches are based on morphological data such as SEM images of the spores and from the examination of herbarium collections mainly from SP and RB Herbaria.

Results: Four species are being recognized in the present paper (*P. lata*, *P. organensis*, *P. praealta*, and *P. sericea*). For two of them, two new combinations into *Pteris* are presented: *P. organensis* and *P. praealta*. A key to distinguishing the newly recognized species and its relative taxa, as well as descriptions, illustrations, and comments are presented in this paper.

Conclusions: By reviewing herbarium materials, mainly observing the morphology of the spores, and collecting more specimens in the field, it was possible to recognize three species (*Pteris lata*, *P. organensis*, and *P. praealta*) in Brazil and also verify the correct application of the name *Pteris sericea* to the Brazilian plants. All these names had been previously synonymized in previous studies. After this study, 27 species of *Pteris* are recognized in Brazil.

KEY WORDS

Brazilian Atlantic Forest, endemic species, fern, morphology, palynology, taxonomy.

RESUMEN

Introducción y objetivos: *Pteris* está ampliamente distribuido con ca. 65 especies en los trópicos. En Brasil fueron reconocidas 24 especies y cinco de ellas son endémicas de la Mata Atlántica Brasileña. El objetivo del presente artículo es reevaluar la taxonomía de *Pteris* presentes en Brasil, con base en nueva evidencia morfológica obtenida de especímenes antiguos y recientes depositados en herbarios, análisis de tipos y observaciones de campo.

M&M: Los nuevos enfoques se basan en datos morfológicos, como imágenes SEM de las esporas, y en el examen de colecciones de herbarios, principalmente de SP y RB Herbaria.

Resultados: En el presente artículo se reconocen cuatro especies (*P. lata*, *P. organensis*, *P. praealta* y *P. sericea*). Para dos de ellos se presentan dos nuevas combinaciones en *Pteris*: *P. organensis* y *P. praealta*. En este artículo se presenta una clave para distinguir las especies recientemente reconocidas y sus taxones relacionados, así como descripciones, ilustraciones y comentarios.

Conclusiones: Al revisar los materiales de los herbarios, observando principalmente la morfología de las esporas y recolectando más especímenes en el campo, fue posible reconocer tres especies (*Pteris lata*, *P. organensis* y *P. praealta*) en Brasil y también verificar la correcta aplicación del nombre *Pteris sericea* a las plantas brasileñas. Todos estos nombres habían sido previamente sinonimizados en estudios anteriores. Después de este estudio, se reconocen 27 especies de *Pteris* en Brasil.

PALABRAS CLAVE

Especie endémica, helecho, Mata Atlántica Brasileña, morfología, palinología, taxonomía.

Recibido: 8 Mar 2024
Aceptado: 1 Jul 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editora: Olga G. Martínez 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

INTRODUCTION

The fern genus *Pteris* L. is monophyletic and belongs to the Pteridaceae and subfamily Pteridoideae (Prado *et al.*, 2007; Schuettpelez *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2015; PPG I, 2016). The genus is widely distributed in the tropics but can reach subtropical and temperate regions. Some species are widely cultivated as ornamentals (e.g., *P. multifida* Poir. and *P. cretica* L.; Walker, 1970) and may occur as naturalized in some places as Brazil (Prado & Hirai, 2024).

Pteris consists of ca. 250 species (PPG I, 2016) and is characterized by having sporangia borne at lamina margins on a commissural vein connecting all veins and indusia strongly differentiated from the recurved margin (Prado & Windisch, 2000). The spores are trilete, tetrahedral, or globose, with an equatorial flange and with surface rugose, rarely granulate or reticulate (Tryon & Tryon, 1982; Tryon & Lugardon, 1990).

According to the previous studies involving *Pteris* in Brazil, 24 species and two varieties were recognized (Prado & Windisch, 2000; Prado *et al.*, 2015; Prado & Hirai, 2024) and five species were recognized as endemic to the Brazilian Atlantic Forest: *P. angustata* (Fée) C.V. Morton, *P. congesta* J. Prado, *P. leptophylla* Sw., *P. limae* Brade, and *P. schwackeana* Christ (Prado & Hirai, 2024).

Chao *et al.* (2014) and Zhang *et al.* (2015) conducted molecular phylogenetic studies showing relationships within *Pteris*. The first carried out a study with 135 species of *Pteris* (ca. 54% of the diversity of genus) from six continents, based on two cpDNA coding regions (*rbcL* and *matK*), to reconstruct the phylogeny of *Pteris* plus the evolution of the leaf morphology and ecological characters, also to understand the expansion and diversification of this cosmopolitan genus. On the other hand, Zhang *et al.* (2015) studied six plastid loci of 119 species of *Pteris* and 18 related genera. The results obtained by Chao *et al.* (2014) with uncertain relationships between *Actiniopteris* Link, *Onychium* Kaulf., and *Pteris* were clarified by Zhang *et al.* (2015), and both found clades well-supported within *Pteris* (11 clades by Chao *et al.*, 2014 versus 15 clades by Zhang *et al.*, 2015).

Recently, studies with *Pteris* spores have shown that they can help with the infrageneric taxonomy of the group, e.g., Palacios-Rios *et al.* (2017) and Chao & Huang (2018). The first study presented six spore patterns of 25 species of *Pteris* from Mexico

and Mesoamerica, took into account the cingulum, presence of a commissural flange, types of macro-ornamentation, ornamentation on distal and proximal faces, and spore size.

Chao & Huang (2018) mapped seven *Pteris* spore characters (equatorial flange, laesural ridges, proximal ridges, distal ridges, tubercules on the distal faces, coarse reticules on the distal faces, and a row of extervermiculi between the distal face and the equatorial flange) onto a reconstructed phylogenetic tree based on previous data published by Prado *et al.* (2007), Chao *et al.* (2014), and Zhang *et al.* (2015). Chao & Huang (2018) studied 57 spores of *Pteris* and combined them with data from the literature, totaling 100 species. In this study, there were some species of *Pteris* from Brazil, whose sequences came from Prado *et al.* (2007), but the spores were not observed, and this information appears as missing data, except for *P. denticulata* whose spore's data were used from Martínez & Morbelli (2009). The results of Chao & Huang (2018) showed that most of these characters evolved independently several times in different lineages and, therefore, spore characters need to be combined with leaf characters to help in the infrageneric taxonomy of *Pteris*.

Based on the above recent evidence of the importance of some morphological characters, the present paper proposes to re-evaluate the taxonomy of *Pteris* occurring in Brazil. The new approaches here presented are based on new morphological data plus the recent observations of specimens in the field, herbaria specimens, as well as on the type specimens of the newly adopted names.

MATERIALS AND METHODS

Taxonomic studies

For this study, we analyzed specimens and types from the following herbaria: BHCB, BM, FCAB, HB, HRCB, IPA, K, M, MBM, NY, P, PACA, R, RB, S, SP, SPF, TAIF, UEC, UPCB, UPS, US, and VT. We also observed online collections from other herbaria, which are available at REFLOA (<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/ConsultaPublicoHVUC.do>), JStor Global Plants (<https://plants.jstor.org/>), *speciesLink* (<https://specieslink.net>), and Smithsonian National Museum of Natural History (<http://collections.nmnh.si.edu/search/botany/>)

websites, especially types. The last author of this work studied almost all types and specimens from many herbaria during his work published in 2000 (Prado & Windisch, 2000).

We personally studied living populations of *Pteris deflexa* Link, *P. lata* Kaulf., *P. organensis* (Fée) J. Prado & R.Y. Hirai, *P. sericea* (Fée) Christ, and *P. splendens* Kaulf. Field trips were carried out from 2014 to 2016 in the following localities: Pernambuco state (November 2014); Serra da Bocaina, State of São Paulo (February 2015); Angra dos Reis, State of Rio de Janeiro (May 2015); several localities in Paraná and Santa Catarina States (June 2016); several places in the States of Bahia, Minas Gerais, and Espírito Santo (July 2016); and the Serra da Bocaina and Itatiaia Mountain, both in the State of Rio de Janeiro (November 2016). Despite searches in Bahia State (Una region) and Rio de Janeiro State (Angra dos Reis), it was not possible to find *P. praealta* in the field.

The following additional material of *Pteris* were illustrated and commented in the species discussion: *P. deflexa*: BRAZIL. Paraná: *Quatro Barras*, Estrada Velha da Graciosa, Oratório Anjo da Guarda, 25° 20' 49.8" S, 48° 57' 52" W, 860 m elevation, 6-VI-2016, Hirai & Prado 788 (SP); Idem: *Coronel Vívada*, Rod. PR-367, 20-II-1971, Hatschbach 26371 (HB); *P. lechleri*: BOLIVIA. La Paz: *Abel Iturralde*, Parque Nacional Madidi, campamento de guardaparques Sadiri, camino Sadiri-Tumupasa, por la senda a las antenas de Entel, 14° 10' S, 67° 53' W, 990 m elevation, 7-VII-2004, Jiménez & Huaylla 2659 (SP), and *P. splendens*: BRAZIL. São Paulo: *São Paulo*, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), trilha que margeia o Zoológico, 20-XII-2005, Prado & Silva 1615 (SP); Idem; id., trilha próximo da Cursino, 20-I-2015, Hirai *et al.* 760 (SP); Rio de Janeiro: *Itatiaia*, Parque Nacional do Itatiaia, na Trilha da Cachoeira Poranga, 22° 26' 26.4" S, 44° 36' 39.9" W, 905 m elevation, 8-V-2015, Prado & Hirai 2395 (SP).

The SEM images of the spores were obtained from the examination of herbarium collections at SP and RB Herbarium (Table 1). All images were prepared at the Instituto de Pesquisas Ambientais (IPA, previously called Instituto de Botânica - IBt), except *Pteris deflexa* were taken at the Kew Herbarium and *P. praealta* at the Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. The spores were described based on the morphology used by Tryon & Lugardon (1990), Lorscheitter *et al.* (2001), Lellinger (2002), and Palacios-Rios *et al.* (2017).

RESULTS AND DISCUSSION

Four species are being recognized in the present study: *Pteris lata*, *P. organensis*, *P. praealta*, and *P. sericea* (Figs. 1-4). They are morphologically related mainly to *Pteris deflexa*, *P. lechleri*, and *P. splendens*. All first three species recognized species are endemic to the Brazilian Atlantic Forest and occur only along the east coast of Brazil, except *P. sericea*, which can also occur in northeastern Argentina.

All these four taxa had been previously synonymized in the previous study by Prado & Windisch (2000), and Prado & Hirai (2024) followed these concepts. With this update, 27 species of *Pteris* are now recognized in Brazil.

Key to the segregated species (appear in bold) of *Pteris* from Brazil and its relatives

1. Venation completely areolate
 2. Rhizome long-creeping. *P. praealta*
 2. Rhizome erect to suberect
 - 3 Sterile pinnae widely oblong (over 2.5 cm wide). *P. splendens*
 3. Sterile pinnae lanceolate. *P. organensis*
1. Venation partially areolate or venation free
 4. Venation free
 5. Laminae pedate; (3-)4-pinnate-pinnatifid at base; rachises greenish or pale abaxially. *P. deflexa*
 5. Laminae not pedate, plane; 1-3-pinnate-pinnatifid at base; rachises dark brown abaxially. *P. lata*
 4. Venation partially areolate
 6. Rhizome erect; rachises dark brown abaxially; veins abaxially easily visible and prominent; laminae densely pilose; Andes. *P. lechleri*
 6. Rhizome creeping; rachises pale abaxially; veins abaxially inconspicuous and not prominent; laminae moderately pilose or just with few hairs spread; east Brazil and northeastern Argentina. *P. sericea*

Table 1. Spore characteristics of the studied species of *Pteris* from Brazil. The species names in bold correspond to the species segregated ones (the names without bold correspond to the previous name applied to the taxon).

Species	Cingulum = equatorial flange	Commissural flange	Distal view	Proximal view	Figure
<i>P. deflexa</i>	nearly continuous, entire	well-defined	coarsely tuberculate-rugate	sparsely verrucose	Fig. 2A, B
<i>P. lata</i>	nearly continuous, entire	defined	sparsely tuberculate-verrucate	laevigate with scattered globules	Fig. 2C, D
<i>P. splendens</i>	continuous, undulate, flattened	inconspicuous	densely rugate-verrucate	rugate-tuberculate, without perforations	Fig. 4E, F
<i>P. organensis</i>	continuous, slightly undulate	inconspicuous	prominently rugate with globules	low rugate-tuberculate with globules, without perforations	Fig. 4A, B
<i>P. praealta</i>	continuous, entire, with a distal depression	inconspicuous	coarsely rugate	low rugate with some perforations	Fig. 4C, D
<i>P. lechleri</i>	continuous, entire	well-defined	reticulate with free tubercles in the lumens	laevigate with scattered globules	Fig. 2E, F
<i>P. sericea</i>	continuous, entire	inconspicuous	rugate	slightly low tuberculate	Fig. 2G, H

Taxonomic treatment for the segregated species

1. ***Pteris lata*** Kaulf., *Link, Hort. Berol.* 2: 28-29. 1833. TYPE: BRAZIL. Material from Brazil, cultivated at Hortus Berolinensis, Berlin (*Lectotype*, designated by Prado 1996: 16, M! on 2 sheets [Herb. J.G. Zuccarini Nr. 170602; Herb. M. Fürbringer Nr. 92574]). Figs. 1A-B; 2A-B.

Plants terrestrial. Rhizomes 1-2 cm thick, short and compact, creeping to erect, woody, densely clothed at apex with lanceolate scales 0.2–0.5 cm long. Fronds 24-121 x 15-64 cm, monomorphic to subdimorphic (fertile pinnae narrower than sterile pinnae), erect; petioles 18-70 x 0.1-0.5 cm, 1-sulcate on the adaxial surface, light brown to dark brown at base, yellowish at median and distal portions, with scales at base, glabrous, surface smooth; laminae chartaceous, not pedate, plane, tripartite, deltate, 1-3-pinnate-pinnatifid at base, 1- or 2-pinnate-pinnatifid at medium and distal portion, 21-51 x 12-20 cm, with (4-)6-9 pairs of pinnae, these opposite, subopposite to alternate, long-lanceolate or long-elliptic, sessile or petiolulate, bases asymmetric, cuneate, petiolules 1-sulcate on the adaxial surface and shortly winged, costae 1-sulcate on the adaxial surface and prominent on the abaxial surface, deflexed, glabrous or with spreading whitish hairs; proximal pinnae 15–22 x 5.0-21 cm, 1- or 2-pinnate-pinnatifid; rachises 40-60 x 0.1-1 cm, 1-sulcate on

the adaxial surface, dark brown abaxially; middle pinnae 7-10 x 1.7-2.5 cm, pinnatifid, diverging from rachises at an acute angle; distal pinnae 4-8 x 0.8-1 cm towards frond apex; apical pinna 7-10 x 2-3 cm, deeply pinnatifid; segments alternate, falcate or deltate, or lanceolate, towards frond apex, pinnae or pinnules with margins entire, smooth or dentate, or serrulate at apex of the segments, apices acute, sometimes apiculate, costules awned at the base on the adaxial surface and prominent on the abaxial face; apical segment tapering, sinuses between the segments acute or roundish or sometimes biangulate; venation free, veins simple or furcate, reaching margins of the segments, clavate at tip. Sori interrupted in the sinuses and absent at apex of the segments; indusia pale, with entire margin; spores trilete; cingulum nearly continuous, entire, distal view sparsely tuberculate-verrucate, proximal view laevigate with scattered globules, showing a defined commissural flange.

Distribution: Endemic of the East coast Brazil (Rio de Janeiro and São Paulo States); it occurs at forest margins; ca. 650-1600 m elevation.

Selected specimens: BRAZIL. Rio de Janeiro: Itatiaia, Parque Nacional do Itatiaia, Hotel Simon abandonado, trilha dos Três Picos, 22° 26' 8.8" S, 44° 36' 43.7" W, 1116 m elevation, 9-V-2015, Prado



Fig. 1. **A-B:** *Pteris lata*. **A:** Habit. **B:** Detail of the rachis dark brown abaxially. **C:** *Pteris deflexa*; part of the frond. **D-E:** *Pteris organensis*. **D:** Fertile frond. **E:** Detail of the veins and sori. **F-G:** *Pteris splendens*. **F:** Habit. **G:** Detail of the veins and sori. **H-I:** *Pteris sericea*. **H:** Frond. **I:** Detail of the pinna abaxially (A: Prado *et al.* 2391, SP; B: Mynssen *et al.* 1435, SP; C: Hirai & Prado 788, SP; D-E: Hirai & Prado 793, SP; F: Hirai *et al.* 760, SP; G: Prado & Hirai 2395, SP; H-I: Prado & Hirai 2403, SP).

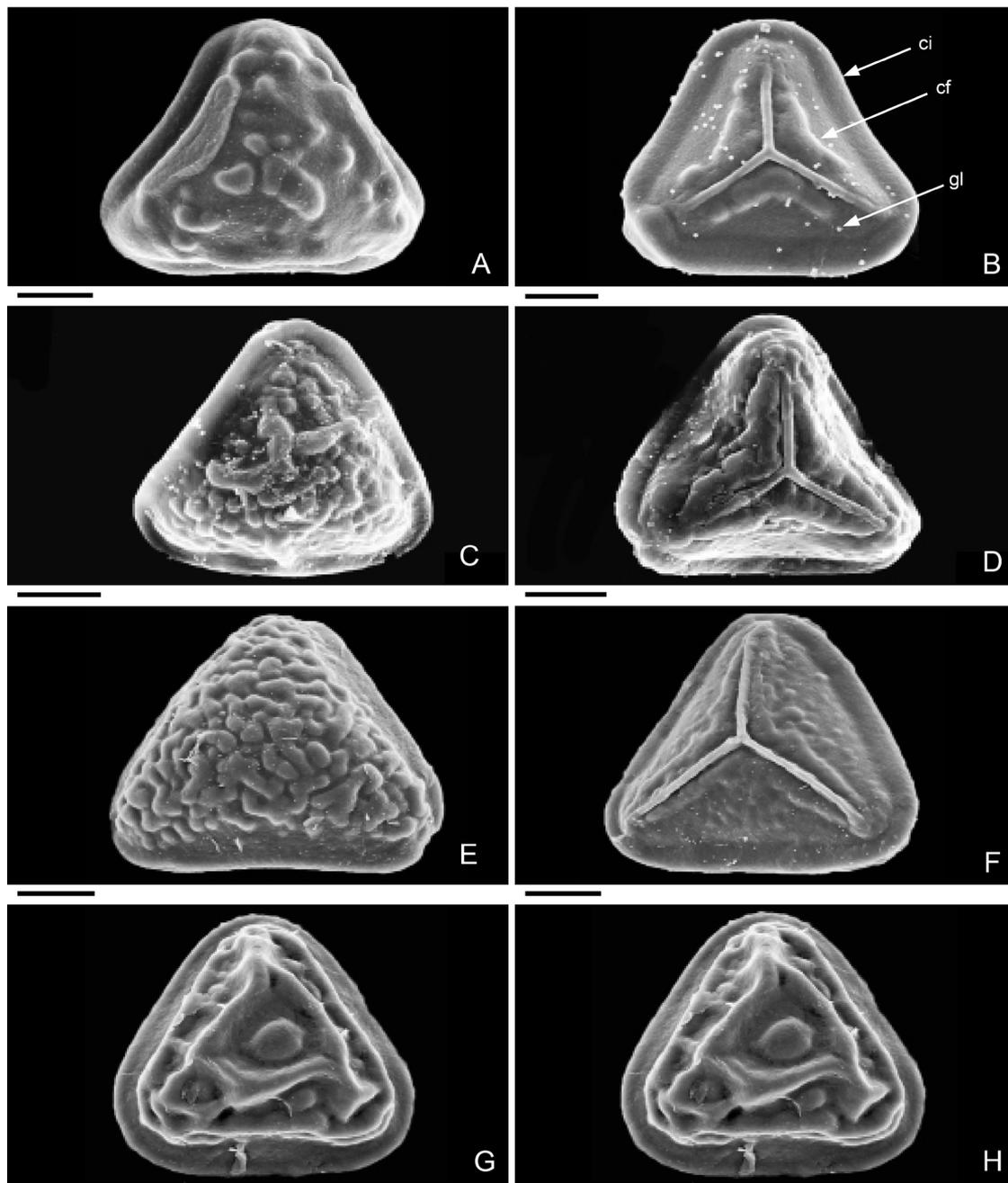


Fig. 2. Trilete spores of *Pteris*. **A-B:** *P. lata*. **A.** Distal view sparsely tuberculate-verrucate. **B.** Proximal view laevigate with scattered globules, showing a defined commissural flange and entire cingulum. **C-D:** *P. deflexa*. **C:** Distal view coarsely tuberculate-rugate. **D:** Proximal view sparsely verrucose, showing a well-defined commissural flange. **E-F:** *P. sericea*. **E:** Distal view rugate. **F:** Proximal view slightly low tuberculate showing inconspicuous commissural flange and entire cingulum. **G-H:** *P. lechleri*. **G:** Distal view reticulate. **H:** Proximal view showing a well-defined commissural flange and entire cingulum. Abbreviations= ci: cingulum; cf: commissural flange; gl: globules. Scale= 10 μ m (A-B: Mynssen 1435, SP; C-D: Hatschbach 26371, HB; E-F: Labiak 4264, SP; G-H: Jiménez & Huaylla 2659, SP).

& Hirai 2404 (SP); *idem*, Trilha para a Cachoeira Vêu da Noiva, 22° 25' 33.5" S, 44° 37' 19.5" W, 1200 m elevation, 7-XI-2016, Prado & Hirai 2454 (SP); *Rio de Janeiro*, Parque Nacional da Tijuca, trilha para o Bico do Papagaio, 22° 56' 51" S, 43° 17' 29" W, 698 m elevation, 6-IX-2014, Mynssen *et al.* 1435 (NY, RB, SP); *Terezópolis*, Rua Paulo Barreto, 22° 27' S, 42° 57' W, 935 m elevation, 14-VII-1992, Prado *et al.* 1089 (NY, SP). *São José do Barreiro*, subindo a trilha atrás da Pousada Campos da Bocaina, 22° 43' 12.3" S, 44° 37' 8.7" W, 1590 m elevation, Prado *et al.* 2391 (SP); *Idem*, descendo a mata à direita, em frente a Pousada Campos da Bocaina, 22° 42' 54.7" S, 44° 37' 8.9" W, 1528 m elevation, 11-XI-2016, Prado & Hirai 2479 (SP); *São Paulo*: *São Luiz do Paraitinga*, Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia, trilha do Rio Paraitinga, 19-XI-1998, Kameyama *et al.* 125 (SP); *Ubatuba*, Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Cunha, 18-XII-1996, Salino 2950 (BHCB, SP).

The Brazilian specimens of *Pteris lata* were treated together with the specimens of *P. deflexa* by Prado & Windisch (2000) and Prado & Hirai (2024). Whereas *P. lata* is restricted to the East coast of Brazil, *P. deflexa* occurs in Central America, Antilles, and South America (Colombia to Argentina); in Brazil from the South of Bahia and Mato Grosso to Rio Grande do Sul states.

Both species can be distinguished morphologically: The lamina of *Pteris lata* is plane and 1-3-pinnate-pinnatifid at base (Fig. 1A; versus pedate and 4-pinnate-pinnatifid at base in *P. deflexa*, Fig. 1C), the color of the rachises dark brown abaxially (Fig. 1B; versus pale or greenish). It is often difficult to observe the division of the lamina in herbarium specimens because many of them only show part of the plant, especially in *P. deflexa* (with fronds up to 2.5 m long), which are generally much larger plants than *P. lata* (up to ca. 1.2 m long). The pedate lamina division of *P. deflexa* is easily observed in plants in the field but it is generally absent in the herbarium specimens. Furthermore, the spores in *P. lata* are morphologically distinct by the sparsely tuberculate-verrucate in distal view (Fig. 2A-B; versus coarsely tuberculate-rugate in *P. deflexa*, Fig. 2C-D).

Martínez & Prado (2011) described a new species from northwestern Argentina, *Pteris exigua*

Martínez & Prado, also similar to *P. deflexa*. However, *P. exigua* has smaller indusia, 0.5-5 mm long (versus larger 5-12 mm long) and whitish (versus paleaceous); costules sparsely scaly abaxially (versus sparsely pilose), segment apex obtuse (versus acute), and conspicuous dentate margins of the sterile segments (versus entire). The spore of *P. exigua* (Fig. 3A-C from Martínez & Prado, 2011) is more similar to *P. lata* (Fig. 2A-B) than *P. deflexa* (Fig. 2C-D).

2. *Pteris organensis* (Fée) J. Prado & R.Y. Hirai, comb. nov. *Litobrochia organensis* Fée, *Cr. Vasc. Br.* 1: 240. 1869. *Pteris splendens* Kaulf. var. *organense* (Fée) Dutra, *An. 1ª Reun. Sul Amer. Bot.* 2: 33. 1938.). TYPE. BRAZIL. Rio de Janeiro, Serra dos Órgãos, VI-1869, A. Glaziou 3329 (*Lectotype*, first-step designated by Prado, 1996: 12, P!; second-step here designated P! barcode P00609078; *isolectotypes*, P! barcode P00609077, RB! barcode RB00543343). Figs. 1D-E; 3A-C; 4A-B.

Plants terrestrial. Rhizomes 1-4 cm thick, erect or suberect, short, woody, densely clothed at the apex with long-lanceolate scales 0.2-0.5 cm long. Fronds 40-100 x 15-60 cm, subdimorphic (fertile pinnae narrower than sterile pinnae), erect; petioles stout, 10-100 x 0.2-0.4 cm, deeply 1-sulcate on the adaxial surface, dark brown to reddish at base and light brown in the median and distal portions, with scales on the base, clothed with whitish to light brown hairs; laminae subcoriaceous, 1-pinnate-imparipinnate, oblong-lanceolate, 40-120 x 15-60 cm, with (2-)6-10 pairs of pinnae, these entire, lanceolate (the sterile ones) or narrowly oblong or lanceolate (the fertile ones), opposite or subopposite, petiolulate, short-petiolulate or sessile, bases cuneate or asymmetric, costae sulcate on the adaxial surface and prominent on the abaxial surface, margins entire to dentate; proximal pinnae 10-25 x 1-2.5 cm, entire; rachises 10-60 x 0.1-0.3 cm, 1-sulcate on the adaxial surface; middle pinnae 9-25 x 1-2 cm, diverging from the rachises at an acute angle; distal pinnae 6.5-20 x 0.9-1.5 cm towards frond apex, base shortly decurrent on the rachises; apical pinna 8-15 x 1.5-2 cm, entire; venation areolate, visible and prominent on the abaxial surface of the pinnae, large areoles joined to the costa, oblique, approximately isodiametric, free

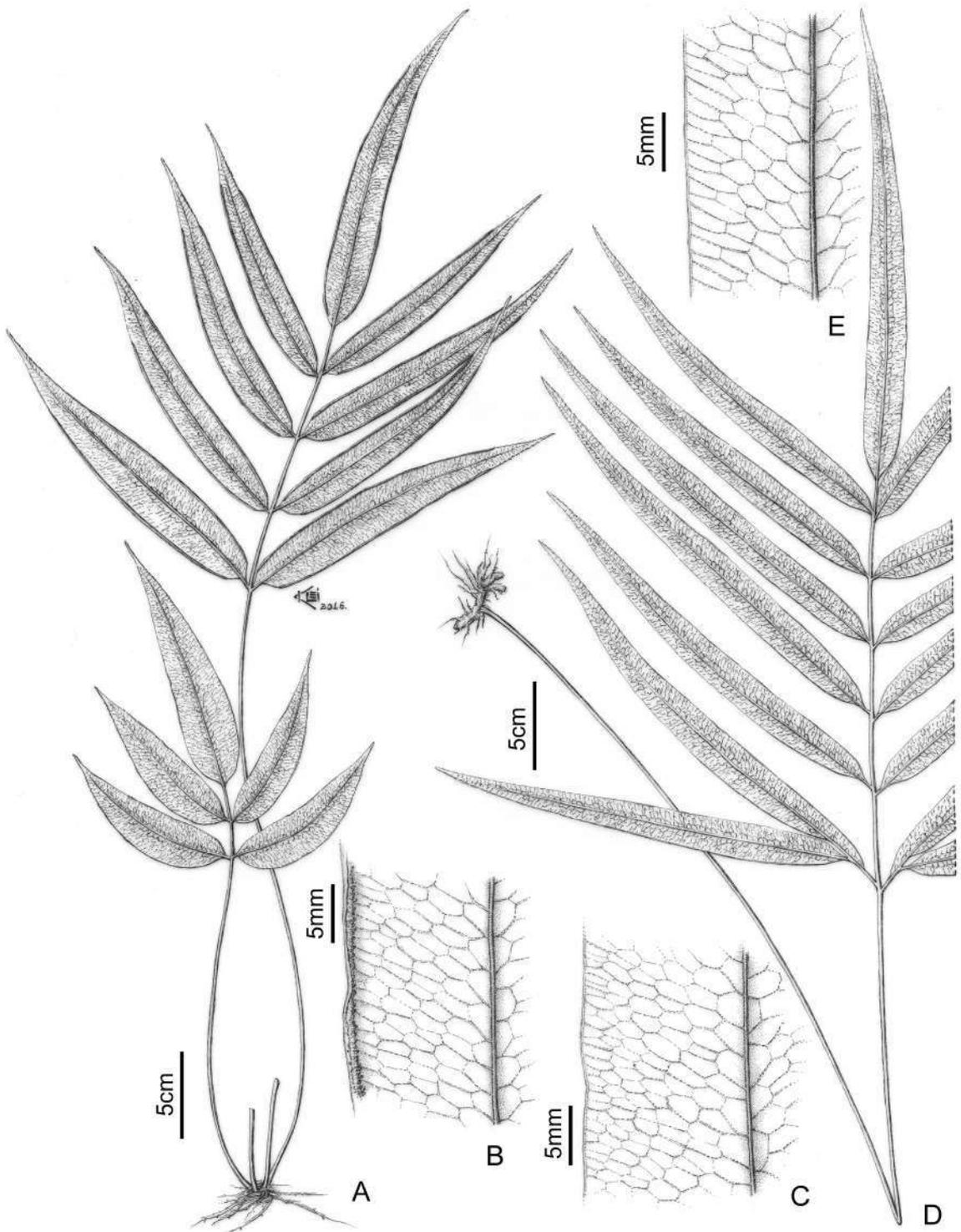


Fig. 3. A-C: *Pteris organensis*. **A:** Habit with one sterile and one fertile frond. **B:** Detail of the venation in a fertile pinna. **C:** Detail of the venation in a sterile pinna. **D-E:** *Pteris praealta*. **D:** Habit. **E:** Detail of the venation in a sterile pinna. (A-C: Hirai & Prado 778B, SP; D-E: Paciencia 375, SP).

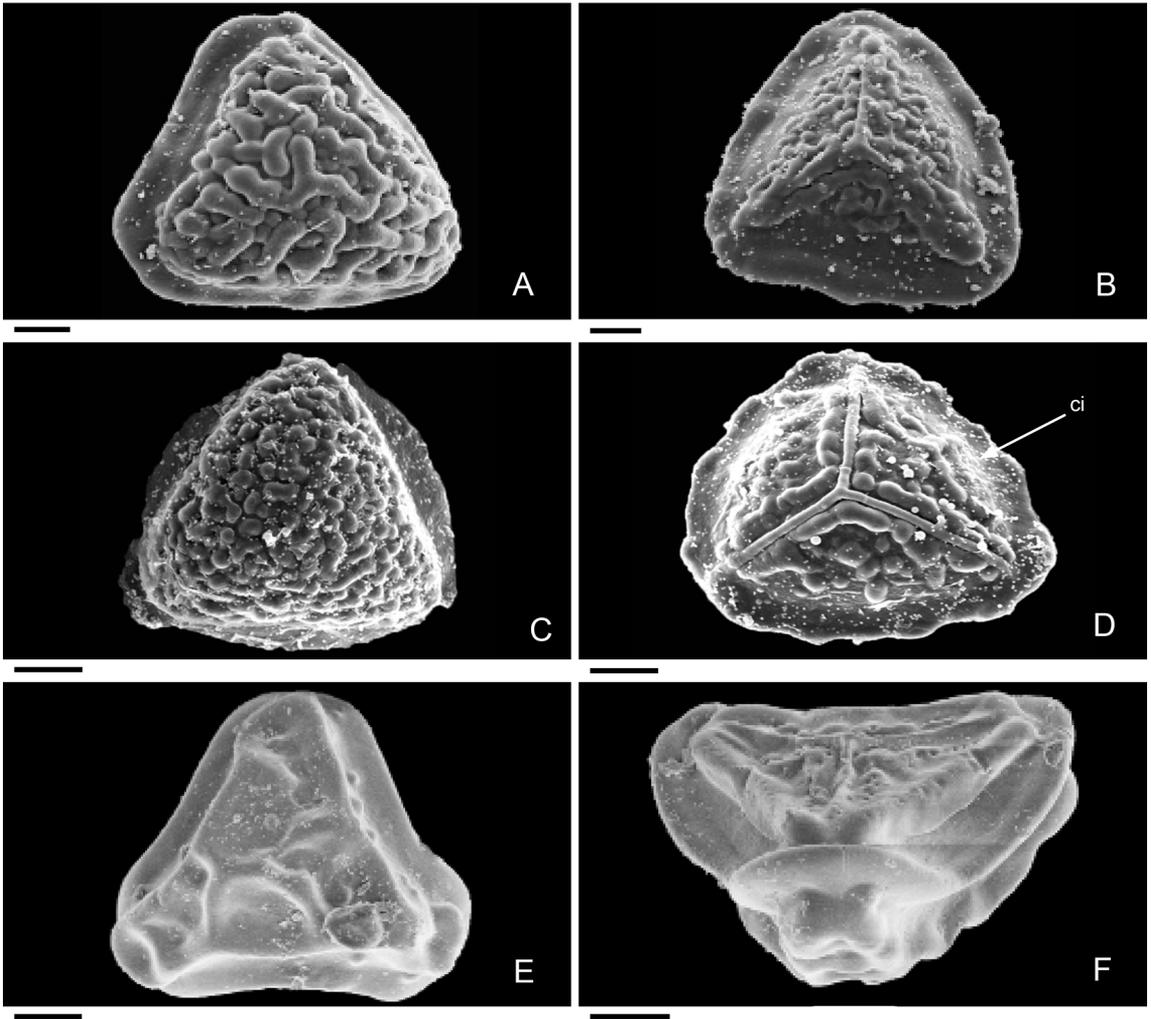


Fig. 4. Trilete spores of *Pteris*. **A-B:** *P. organensis*. **A:** Distal view prominently rugate. **B:** Proximal view low rugate-tuberculate with inconspicuous commissural flange. **C-D:** *P. splendens*. **C:** Distal view densely rugate-verrucate. **D:** Proximal view rugate-tuberculate with inconspicuous commissural flange, cingulum undulate. **E-F:** *P. praealta*. **E:** Distal view coarsely rugate. **F:** Proximal view low rugate with some perforations, cingulum continuous with a distal depression. Scale= 10 μm (A-B: Prado & Hirai 2482, SP; C-D: Prado & Silva 1615, SP; E-F: Brade 14944, RB).

veins arising from the areoles near the margins of the pinnae, in the sterile frond the apex of the veins clavate. Sori absent at base and at the apex of the pinnae; indusia pale, margin entire; spores trilete; cingulum continuous, slightly undulate, distal view prominently rugate with globules, proximal view low rugate-tuberculate with globules, without perforations, and inconspicuous commissural flange.

Distribution: Endemic of the East coast Brazil (Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, and Paraná); it grows inside forests at medium elevations; ca. 450-1700 m elevation.

Selected specimens: BRAZIL. Bahia: *Almadina*, Serra dos Sete Paus, 6 km de Almadina na estrada para Ibitupã, 7 km N para a Comunidade de Sete

Paus, na nascente do Rio Almada, 14° 44' S, 39° 42' W, 578 m elevation, 19-VII-2005, Matos *et al.* 708 (SP). Minas Gerais: *Araponga*, Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Serra das Cabeças, 1400 m elevation, 30-I-2002, Valente *et al.* 868 (SP); *Descobertos*, Reserva Biológica do Gramma, trilha principal, 15-VI-2005, Jascone *et al.* 432 (SP); *Lima Duarte*, Parque Estadual do Ibitipoca, 21° 42' 11" S, 43° 53' 0.6" W, 10-VIII-2005, Mynssen *et al.* 826 (RB, SP). Espírito Santo: *Santa Teresa*, Alto de Santo Antônio, terreno do Bozza, 19° 54' 31" S, 40° 35' 28" W, 760 m elevation, 12-VII-2007, Labiak *et al.* 4043 (SP, UPCB); Idem, id., entrada à esquerda (Madeira MADEFEL), 19° 54' 36.3" S, 40° 35' 30.2" W, 810 m elevation, 8-VII-2016, Hirai & Prado 793 (SP). Rio de Janeiro: *Angra dos Reis*, Serra do Mar, descendo pela BR 494, entrada à direita, estacionamento da Capela, 22° 52' 8" S, 44° 15' 12.1" W, 467 m elevation, 11-V-2015, Hirai & Prado 778B (SP), Idem, id., 22° 52' 8" S, 44° 15' 12.1" W, 467 m elevation, 4-XI-2016, Prado & Hirai 2444 (SP); *Petrópolis*, Vale das Videiras, subida do Morro da Cuca, 13-VI-2000, Prado *et al.* 1086 (NY, SP); *Santa Maria Madalena*, Pedra Dubois, trilha para o alto da pedra, 800-1000 m, 18-VI-2004, Mello-Silva *et al.* 2649 (SP, SPF). São Paulo: *São José do Barreiro*, subindo a trilha atrás da Pousada Campos da Bocaina, 22° 43' 12.3" S, 44° 37' 8.7" W, 1590 m elevation, 23-II-2015, Prado *et al.* 2387 (SP); Idem, Parque Nacional da Serra da Bocaina, na trilha para a Cachoeira Santo Izidro, 22° 44' 37.5" S, 44° 36' 56.2" W, 1562 m elevation, 22-II-2015, Hirai *et al.* 766 (SP); Idem, trilha para o Condomínio, que começa em frente à Pousada do Lageado, 22° 42' 34.8" S, 44° 37' 30.5" W, S-SE, 1710 m elevation, 12-XI-2016, Prado & Hirai 2482 (SP). Paraná: *Alexandra*, PARNA Saint-Hilaire/Lange (Serra da Prata), 1030 m elevation, 21-V-2005, Paciencia *et al.* 2195 (SP); *Sengés*, Vale do Corisco, próximo ao Mirante, 24° 12' 16" S, 49° 21' 6" W, 880 m elevation, 4-I-2008, Prado *et al.* 1801 (UPCB, SP).

This species was put in synonym of *Pteris splendens* by Prado & Windisch (2000) and Prado & Hirai (2024) followed this concept, but the re-analyses of more herbarium specimens, as well as some populations of *P. organensis* in the field, we are now able to recognize it as a different species. It can be recognized by the sterile pinnae lanceolate

(Fig. 3A; versus widely oblong in *P. splendens*, Fig. 1F) and by the fertile pinnae narrowly oblong or lanceolate (Figs. 1D, 3A; versus widely oblong in *P. splendens*). Furthermore, *Pteris organensis* has prominently rugate spores in distal view (Fig. 4A), whereas *P. splendens* has densely rugate-verrucate spores (Fig. 4C).

Pteris splendens occurs in Paraguay and Brazil (from the state of Ceará to Rio Grande do Sul) and *P. organensis* is restricted to the East coast of Brazil.

3. ***Pteris praealta*** (Fée) J. Prado & R.Y. Hirai, **comb. nov.** *Litobrochia praealta* Fée, *Cr. vasc. Br.* 1: 46, t. 11, fig. 2. 1869. TYPE. BRAZIL. Rio de Janeiro, Jacuecanga, 16-VI-1868, A. Glaziou 2304 (*Lectotype*, designated by Prado, 1996: 13, P! on 4 sheets barcodes P00609073, P00609074, P00609075, P00609076; *isolectotypes*, K! barcode K000589370, S05-9754 image!). Figs. 3D-E; 4E-F.

Plants terrestrial. Rhizomes 1-4 cm thick, long-creeping, woody, densely clothed at apex with long-lanceolate scales 0.2-0.5 cm long. Fronds 40-200 x 20-60 cm, monomorphic to subdimorphic (fertile pinnae narrower than sterile pinnae), erect; petioles stout, 20-120 x 0.2-0.4 cm, deeply 1-sulcate on the adaxial surface, dark brown to reddish at base, median and distal portions, with scales on the base; laminae subcoriaceous, 1-pinnate-imparipinnate, oblong-lanceolate, 30-150 x 15-60 cm, with 4-8 pairs of pinnae, these entire, narrowly lanceolate to oblong, opposite or subopposite, petiolulate, short-petiolulate or sessile, bases cuneate or asymmetric, costae sulcate on the adaxial surface and prominent on the abaxial surface, margins entire to dentate; proximal pinnae 10-30 x 1-2 cm, entire or furcate; rachises 10-40 x 0.1-0.2 cm, 1-sulcate on the adaxial surface, shortly winged in the distal region, dark brown abaxially; middle pinnae 9-20 x 1-2 cm, diverging from the rachises at an acute angle; distal pinnae 15-20 x 0.9-2 cm towards frond apex, base shortly decurrent on the rachises; apical pinna 10-20 x 1.5-2 cm, entire; venation areolate, visible and prominent on the abaxial surface of the pinnae, large areoles joined to the costa, oblique, approximately isodiametric, free veins arising from the areoles near the margins of the pinnae, in the sterile frond the apex of the veins clavate. Sori absent at base and at the apex of the pinnae; indusia pale, margin

entire; spores trilete; cingulum continuous, entire, with a distal depression, distal view coarsely rugate, proximal view low rugate with some perforations, and inconspicuous commissural flange.

Distribution: Endemic of the East coast Brazil (Bahia and Rio de Janeiro); it grows inside forests at low elevations near the coast; 0-600 m elevation.

Selected specimens: BRAZIL. Bahia: *Una*, REBio de Una, 16-IV-1999, Paciencia 375 (SP). Rio de Janeiro: *Angra dos Reis*, Serra do Mar, 600 m elevation, 29-VI-1935, Brade 14944 (RB).

Prado & Windisch (2000) treated this species as a synonym of *Pteris splendens* and Prado & Hirai (2024) followed this concept. However, the rhizome of *Pteris praealta* is long-creeping (Fig. 3D), whereas in *P. splendens* is short, erect to suberect. In 1935, Brade had already observed this morphological characteristic of the rhizome of *P. praealta* and he noted this information on his herbarium specimen label (Brade 14944).

Additionally, *Pteris praealta* has pinnae narrower (up to 2 cm wide) than *P. splendens* (up to 4 cm wide). Distally the main rachis in *P. praealta* is dark brown abaxially (versus light brown or yellowish in *P. splendens*). The spores in *P. praealta* are different in both views: coarsely rugate in the distal view (Fig. 4E) and low rugate with some perforations in the proximal view (Fig. 4F), whereas the spores of *P. splendens* are densely rugate-verrucate in the distal view (Fig. 4C) and rugate-tuberculate in the proximal view (Fig. 4D).

4. ***Pteris sericea*** (Fée) Christ, *Bull. Herb. Boissier*, sér. 2, 2: 551. 1902. *Litobrochia sericea* Fée, *Cr. Vasc. Br.* 1: 118, t. 11, fig 3. 1869. TYPE. BRAZIL. Rio de Janeiro, 1868, A. Glaziou 2312 (*Lectotype*, designated by Prado, 1995[1996]: 40, P! on 4 sheets barcodes P00609054, P00609055, P00609056, P00609057; *isolectotypes* BR barcode BR0000013206406 image!, BR barcode BR0000013206413 image!, K! barcode K000589377, S05-9753 image!). Figs. 1H-I; 2E-F.

Plants terrestrial. Rhizomes 0.5-1 cm thick, creeping, woody, clothed at apex with lanceolate

scales 0.3-0.5 cm long. Fronds 25-200 x 10-60 cm, monomorphic to subdimorphic (fertile pinnae narrower than sterile pinnae), erect; petioles 20-70 x 0.2-0.5 cm, 2- or 3-sulcate on the adaxial surface, light brown to dark brown (sometimes reddish at base), with scales at base, clothed with a prominent sericeous indument, hairs whitish, 1-3-celled, ca. 1 mm long, this indument covering moderately and occurring on all parts of the frond or just with few hairs spread; laminae chartaceous, deltate, 1-pinnate-pinnatifid, 15-90 x 10-60 cm, with 3-6 pairs of pinnae, these opposite to subopposite, oblong-lanceolate to elliptic, sessile to petiolulate (proximal pinnae), bases of the basiscopic side shortly decurrent on the rachises, costae sulcate on the adaxial surface and prominent on the abaxial surface; pair of proximal pinnae furcate, pinnatifid, basiscopic portion of the fork 9-20 x 2.5-7 cm, towards frond base, acroscopic portion of the fork 10-30 x 4-8 cm; rachises 7-70 x 0.1-0.4 cm, 2-sulcate on the adaxial surface, pale abaxially; middle pinnae 8-23 x 3-8 cm, diverging from the rachises at an acute angle; distal pinnae 6-9 x 1.5-3 cm towards frond apex; apical pinna 9-15 x 4-6 cm, deeply pinnatifid; proximal segments shorter than the median segments, alternate, linear to lanceolate, slightly falcate, apices acute or obtuse-roundish, margins entire, slightly dentate at apex; apical segment short, lobate to pinnatifid, costules prominent on the abaxial surface, sinuses between the segments acute, roundish, or biangulate; venation partially areolate, one large and elongate areole, another small areole joined to the costa, between two adjacent costules, the areolate joined to the costule and with free veins arising from the areoles near the margins of the segments, veins abaxially inconspicuous and not prominent, apex of the veins slightly clavate. Sori interrupted in the sinuses and absent at apex of the segments; indusia pale or whitish, margin entire; spores trilete; cingulum continuous, entire, distal view rugate, proximal view slightly low tuberculate, and inconspicuous commissural flange.

Distribution: Southeastern Brazil (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, and Rio Grande do Sul), and northeastern Argentina; it grows inside forests; ca. 600-1750 m elevation.

Selected specimens: BRAZIL. Espírito Santo: *Venda Nova do Imigrante*, Pedra do Rego, na trilha, 20° 18' 21" S, 41° 10' 25" W, 1230 m elevation, 9-IV-2019, Cordeiro & Brotto 6246 (MBM). Minas Gerais: *Caldas*, 1873, Mosén 3088 (K, P, R, S, UPS); *Poços de Caldas*, Morro do Ferro, 26-IV-1968, Ana-Lima 68-102 (IPA). Rio de Janeiro: *Itatiaia*, Parque Nacional do Itatiaia, Hotel Simon abandonado, trilha dos Três Picos, 22° 26' 8.8" S, 44° 36' 43.7" W, 1116 m elevation, 9-V-2015, Prado & Hirai 2403 (SP); *Macaé*, Glicério, trilha Água Fria, ca. 800 m elevation, 7-VI-2004, Mynssen & Bovini 637 (RB, SP); *Nova Friburgo*, subida para o Pico da Caledônia, 22° 40' S, 42° 35' W, 1706 m elevation, 15-VI-2000, Prado *et al.* 1093 (NY, SP); *Rio Funil*, perto do Estado de São Paulo, 8-XI-1956, Handro 668 (SP, SPF); *Teresópolis*, Toca dos Caçadores, 1300 m, s.d., Brade 9318 (BM, R). São Paulo: *Campos do Jordão*, III-1946, Leite 156 (FCAB); *Iporanga/Apiai*, Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), 24° 32' 22" S, 48° 41' 36." W, 7-VII-2012, Mazziere & Albiero 1115 (SP, UPCB); *Jundiaí*, Serra do Japi, trilha indo para a Cachoeira Paraíso, 23° 14' S, 46° 56' W, 996 m elevation, 13-XI-2009, Prado *et al.* 2061 (SP, UEC); *Paranapiacaba*, Serra de Paranapiacaba-Serra da Boa Vista, 700 m elevation, X-1925, Brade 8404 (HB, R); *São José dos Campos*, estrada São Francisco Xavier-Jardinópolis, Faz. Santa Cruz, 14-IV-1981, Vieira 24 (HRCB); *São Paulo*, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, 23-IV-1979, Tosta Silva 303 (SP); *Idem*, Jaraguá, 2-II-1922, Luederwaldt s.n. (SP 21648). Paraná: *Adrianópolis*, Parque Estadual das Lauráceas, 24° 40' S, 48° 32' W, 12-XII-2006, Matos *et al.* 1296 (SP, UPCB); *Antônio Olinto*, Água Amarela, 1-X-1969, Hatschbach 22304 (MBM, PACA, UPCB); *Balsa Nova*, Serra de São Luis, 16-VIII-1970, Hatschbach 24479 (MBM, PACA); *Campo Largo*, Rodovia BR-277, junto ao viaduto de acesso a Campo Largo, 25° 26' 3" S, 49° 30' 31" W, 975 m elevation, 3-IV-2011, Fiaschi *et al.* 3720 (SP, SPF); *Campo Mourão*, Mata do lado da Usina Mourão, 24° 7' 6" S, 52° 19' 13" W, 600 m elevation, 24-XII-2007, Labiak *et al.* 4264 (SP, UPCB); *Curitiba*, Parque Iguazú, 22-VIII-1984, Oliveira 807 (MBM); *Guarapuava*, Estrada Municipal Benedito de Paula Louro, próximo a Cachoeira São Francisco, 25° 3' S, 51° 12' W, 1080 m elevation, 15-X-2011, Prado & Hirai 2190 (SP, SPF, TAIF,

UPCB, VT); *Ponta Grossa*, Parque Estadual de Vila Velha, 25° 14' S, 50° 0' W, 1000 m elevation, 10-XI-2003, Schwartsburd 1 (SP, UPCB); *Serra do Mar*, Ypiranga, "in silva primaeva", 830 m elevation, 16-I-1914, Dusén 14423a (BM, K, US). Santa Catarina: *Canoinhas*, Rio da Areia, 21-IV-1962, Reitz & Klein 12713 (HB, MBM); *Fragoso*, s.d., Hatschbach 2492 (MBM, RB); *Marata*, Porto União, 19-I-1952, Reitz 4705 (HB, PACA); *Hammonia*, 11-X-1922, Luederwaldt s.n. (SP 21650); *Porto União*, Pinheiral near Porto União on road to Santa Rosa, 750–800 m elevation, 18-XII-1956, Smith & Reitz 8749 (HB, K, R, US); *Xanxerê*, "Pinheiral and ruderal", Faxinal dos Guedes, 700–900 m elevation, 3-I-1957, Smith & Reitz 9790 (R). Rio Grande do Sul: *Santa Cruz*, Herval do Paredão, s.d., Juergens & Stier 190 (PACA).

Prado & Windisch (2000) and Prado & Hirai (2024) treated the Brazilian specimens of this species as *Pteris lechleri* Mett, but the available name to apply to this species from Brazil is *P. sericea*. *Pteris lechleri* occurs in Central America (Panama) and South America (from Colombia to Bolivia).

Pteris sericea differs from *P. lechleri* in having rhizome creeping, laminae less pubescent, rachises pale abaxially, and geographically it is isolated in the Atlantic Forest (East coast of Brazil and Misiones in northeastern Argentina), whereas *P. lechleri* has its distribution restricted to the Andes, rhizome erect, laminae densely pubescent, and rachises dark brown. Tryon & Stolze (1989) had already observed that *P. lechleri* has an erect rhizome in plants from Peru, where the type specimen of the name came from. However, this characteristic may go unnoticed because many materials in herbaria are without rhizomes. The ornamentation of the spores is also different in both species: *P. lechleri* has reticulate spores with free tubercles in the lumens (Fig. 2G-H) and *P. sericea* has rugate spores in distal view (Fig. 2E-F).

In the general aspect, *Pteris sotae* O. Martínez resembles *P. sericea*, but differs by the entire and long terminal segment of the pinnae, sometimes caudate (versus lobate to pinnatifid and short), rounded apex of the laminar hairs (versus acicular), and coarsely rugate spores on distal view (versus rugate). *Pteris sotae* occurs only in the Tucuman-Bolivia forests in Argentina (Martínez, 2016).

CONCLUSIONS

The present study revised the current circumscriptions of three species of *Pteris*: *P. deflexa*, *P. lechleri*, and *P. splendens* and based on morphological evidence four new taxa were recognized: *P. lata* segregated from *P. deflexa*; *P. organensis* and *P. praealta* from *P. splendens*; and *P. sericea* from *P. lechleri*. These new data revealed that the Brazilian Atlantic Forest has more species of ferns than previously recognized in the Flora of Brazil by Prado *et al.* (2015).

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was largely funded by a grant to the first author from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant no. 158895/2014-2) and the last author from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, grants no. 2013/23702-0, 2022/12597-0, 2023/13634-0). We thank Dra. Luciana Benjamim Benatti (Instituto de Pesquisas Ambientais-IPA, former Instituto de Botânica-IBT) for preparing the SEM images of the spores. We also thank the anonymous reviewers for suggestions to improve this manuscript.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

RYH and JP contributed to the study conception and prepared the descriptions with taxonomical and nomenclatural approaches. All authors, including CMM, helped in the fieldwork and prepared the material and images of the spores for SEM, as well as writing this manuscript.

BIBLIOGRAPHY

- CHAO, Y.-S. & Y.-M. HUANG. 2018. Spore morphology and its systematic implication in *Pteris* (Pteridaceae). *Plos One* 13: e0207712. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207712>
- CHAO, Y.-S., G. ROUHAN, V. B. AMOROSO & W.-L. CHIOU. 2014. Molecular phylogeny and biogeography of the genus *Pteris* (Pteridaceae). *Ann. Bot.* 114: 109-124. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu086>
- LELLINGER, D. B. 2002. A modern multilingual glossary for taxonomic Pteridology. *Pteridologia* 3: 1-263.
- LORSCHREITER, M. L., A. R. ASHRAF, P. G. WINDISCH & V. MOSBRUGGER. 2001. Pteridophyte spores of Rio Grande do Sul flora, Brazil. Part III. *Palaeontographica* 260: 1-165.
- MARTÍNEZ, O. G. 2016. *Pteris sotae* (Pteridaceae), a new endemic species for the Argentinean flora. *Phytotaxa* 267: 291-295. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.267.4.6>
- MARTÍNEZ, O. G. & M. A. MORBELLI. 2009. The spores of *Pteris cretica* complex (Pteridaceae-Pteridophyta) in America. *Grana* 48: 193-204.
- MARTÍNEZ, O. G. & J. PRADO. 2011. *Pteris exigua* (Pteridaceae), a new endemic species from Tucumano-Boliviano forests in northwestern Argentina. *Brittonia* 63: 295-299. <http://dx.doi.org/10.1007/s12228-010-9166-9>
- PALACIOS-RIOS, M., C. PRADA, J. M. G. GALÁN & J. NOA. 2017. Spore types in Mexican and Mesoamerican species of *Pteris* L. (Pteridaceae). *Grana* 56: 241-256. <http://dx.doi.org/10.1080/00173134.2016.1217038>
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *J. Syst. Evol.* 54: 563-603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- PRADO, J. 1995[1996]. Two lectotypifications and one synonymy in Brazilian *Pteris* L. (Pteridaceae). *Hoehnea* 22: 39-40.
- PRADO, J. 1996. A survey of types in *Pteris* L. *Bradea* 8: 11-20.
- PRADO, J. & R.Y. HIRAI. 2024. *Pteris* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB91978> [Accessed on: 14 February 2024].
- PRADO, J. & P. G. WINDISCH. 2000. The genus *Pteris* L. (Pteridaceae) in Brazil. *Bol. Inst. Bot. (São Paulo)* 13: 103-199.
- PRADO, J., C. N. RODRIGUES, A. SALATINO & M. F. L. SALATINO. 2007. Phylogenetic relationships among Pteridaceae, including Brazilian species, inferred from *rbcL* sequences. *Taxon* 56: 355-368. <https://doi.org/10.1002/tax.562008>
- PRADO, J., L. S. SYLVESTRE, P. H. LABIAK, P. G. WINDISCH, ..., & F. B. MATOS. 2015. Diversity of ferns and lycophytes in Brazil. *Rodriguésia* 66: 1073-1083. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201566410>
- SCHUETTPELZ, E., H. SCHNEIDER, L. HUIET, M. D. WINDHAM & K. M. PRYER. 2007. A molecular

- phylogeny of the fern family Pteridaceae: assessing overall relationships and the affinities of previously unsampled genera. *Molec. Phylogenet. Evol.* 44: 1172-1185. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.04.011>
- TRYON, A. F. & B. LUGARDON. 1990. *Spores of the Pteridophyta. Surface, wall structure and evolution based on electron microscope studies.* Springer-Verlag, New York.
- TRYON, R. M. & R. G. STOLZE. 1989. Pteridophyta of part II, 13. Pteridaceae-15. Dennstaedtiaceae. *Fieldiana, Bot.* 22: 1-128.
- TRYON, R. M. & A. F. TRYON. 1982. *Ferns and allied plants, with special reference to tropical America.* Springer-Verlag, New York.
- WALKER, T. G. 1970. Species of *Pteris* commonly in cultivation. *Brit. Fern Gaz.* 10: 143-151.
- ZHANG, L., C. J. ROTHFELS, A. EBIHARA, E. SCHUETTPELZ, ..., & L.-B. ZHANG. 2015. A global plastid phylogeny of the brake fern genus *Pteris* (Pteridaceae) and related genera in the Pteridoideae. *Cladistics* 31: 406-423. <https://doi.org/10.1111/cla.12094>



ANATOMÍA DEL PECÍOLO DE 16 ESPECIES DE POLYPODIACEAE PRESENTES EN MÉXICO

PETIOLE ANATOMY OF 16 SPECIES OF POLYPODIACEAE FROM MEXICO

Sarahi Luis-Enrriquez¹, Aniceto Mendoza-Ruiz^{1*}, Jacqueline Ceja-Romero¹
& Ernesto Velázquez-Montes²

1. Área de Botánica estructural y Sistemática Vegetal, Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Ciudad de México, México

2. Laboratorio de Plantas Vasculares, Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México

*amr@xanum.uam.mx

Citar este artículo

LUIS-ENRÍQUEZ, S., A. MENDOZA-RUIZ, J. CEJA-ROMERO & E. VELÁZQUEZ-MONTES. 2024. Anatomía del pecíolo de 16 especies de Polypodiaceae presentes en México. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 273-298.

DOI: <https://doi.org/110.31055/1851.2372.v59.n3.44531>

Recibido: 13 Mar 2024
Aceptado: 5 Jun 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editor: Gonzalo J. Márquez¹

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: Several works have shown that the petiole possesses useful anatomical characteristics for differentiating groups. Therefore, we carried out a descriptive and comparative anatomical study of the basal, middle, and apical regions of the petiole of 16 species belonging to 8 genera of Polypodiaceae growing in Mexico, to identify anatomical characters that can contribute to their delimitation and identification
M&M: Samples were collected from the basal, middle, and apical regions of the petiole and processed according to the paraffin embedding technique to obtain permanent preparations. The generated information was evaluated through a clustering analysis and a principal component analysis.

Results: All petioles showed an unistratified epidermis, a cortex differentiated into external and internal, and vascular bundles with *Polypodium*-type distribution. Differences were registered in the petiole diameter, indument type, circumendodermal band, and number of vascular bundles. Four types of external cortex are recognized and the presence of nectaries in *Campyloneurum amphostenon* and *C. costatum* is reported for the first time, as well as the glandular hairs inserted at the base of the scales in *Microgramma percuta*. Identification keys were elaborated.

Conclusions: The anatomical characteristics of the petiole allow us to differentiate taxonomically the genera and most of the species analyzed, the most important traits being the petiole diameter, the characteristics of the circumendodermal band, and the presence of aerenchyma and/or wings.

KEY WORDS

Aerenchyma, circumendodermal band, ferns, nectaries, Polypodiaceae, vascular bundles.

RESUMEN

Introducción y objetivos: Diversos trabajos han mostrado que el pecíolo posee características anatómicas útiles en la diferenciación de grupos, por lo que realizamos el estudio anatómico descriptivo y comparativo de las regiones basal, media y apical del pecíolo de 16 especies pertenecientes a 8 géneros de Polypodiaceae que crecen en México, con la finalidad de identificar caracteres anatómicos que puedan contribuir a su delimitación e identificación.

M&M: Se recolectaron muestras de las regiones basal, media y apical del pecíolo y se procesaron a través de la técnica de inclusión en parafina para obtener preparaciones permanentes. La información generada se evaluó mediante un análisis de agrupamientos y un análisis de componentes principales.

Resultados: Todos los pecíolos mostraron epidermis uniestratificada, córtex diferenciado en externo e interno y haces vasculares con distribución tipo *Polypodium*. Se observaron diferencias en el diámetro del pecíolo, tipo de indumento, banda circumendodermal y número de haces vasculares. Se reconocen cuatro tipos de córtex externo y se reporta por primera vez la presencia de nectarios en *Campyloneurum amphostenon* y *C. costatum*, así como pelos glandulares insertados en la base de las escamas en *Microgramma percuta*. Se elaboraron claves de identificación.

Conclusiones: Las características anatómicas del pecíolo permiten diferenciar taxonómicamente a los géneros y la mayoría de las especies analizadas, siendo los rasgos más importantes el diámetro del pecíolo, las características de la banda circumendodermal y la presencia de aeróforos y/o alas.

PALABRAS CLAVE

Aeróforos, banda circumendodermal, haces vasculares, helechos, nectarios, Polypodiaceae.

INTRODUCCIÓN

La familia Polypodiaceae ocupa el segundo lugar en riqueza específica dentro de los helechos, su distribución es cosmopolita y, de acuerdo con la clasificación del PPG I (2016), se divide en seis subfamilias, de las cuales Grammitidoideae, Loxogrammoideae y Polypodioideae están presentes en México, siendo esta última la mejor representada en el país con ocho de sus nueve géneros.

La circunscripción taxonómica de la subfamilia Polypodioideae (*sensu* PPG I, 2016) y de los géneros que la integran se ha modificado en los últimos años, así por ejemplo Smith *et al.* (2006), con base en evidencia molecular y morfológica, segregaron a *Serpocaulon* de *Polypodium*, mientras que Smith & Tejero-Díez (2014) y Assis *et al.* (2016) redefinieron los géneros *Pleopeltis* y *Pechuma* respectivamente. Más recientemente, Wei & Zhang (2022) propusieron a partir de Polypodioideae tres nuevas subfamilias: Adetogrammoideae, Campyloneuroideae y Serpocauloideae, lo que muestra la necesidad de continuar con el estudio del grupo.

Son diversos los trabajos sobre anatomía de helechos que han registrado la utilidad de esta fuente de información en la resolución de problemas taxonómicos, encontrando en el pecíolo caracteres con valor diagnóstico como el número, forma, arreglo y configuración del xilema en los haces vasculares y la presencia de la banda circumendodermal alrededor de estos (Ogura, 1972; Lin & De Vol, 1977, 1978; Davies, 1991; Ummu-Hani *et al.*, 2013; Noraini *et al.*, 2014; Resmi *et al.*, 2016; Palacios-Rios *et al.*, 2019; Tan *et al.*, 2020; Mondal & Moktan, 2023).

En particular para la subfamilia Polypodioideae (*sensu* PPG I, 2016), varios artículos incluyen información sobre la anatomía del pecíolo de algunas especies que están presentes en México (de la Sota, 1966; Zlotnik, 1987, 1991; Ferrari, 2009; Tejero-Díez *et al.*, 2010; Hernández *et al.*, 2012; Jaimez *et al.*, 2021), sin embargo, aún hace falta conocer las características de esta estructura en un mayor número de representantes del grupo. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue realizar el estudio anatómico descriptivo y comparativo de las regiones basal, media y apical del pecíolo de 16 especies de los 8 géneros de la subfamilia Polypodioideae que crecen en México,

así como explorar su utilidad en la delimitación e identificación de los taxones analizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material estudiado

El material botánico se obtuvo de colectas realizadas en el campo y de ejemplares herborizados, el nombre de las especies y los datos de los especímenes estudiados se presentan en la Tabla 1. Los ejemplares de respaldo se encuentran depositados en el Herbario Metropolitano de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa, México (UAMIZ).

Análisis Anatómico

De cuatro individuos de cada número de colecta (Tabla 1) se cortaron segmentos de 5 mm de largo, de las regiones basal, media y apical del pecíolo de hojas maduras, las cuales se fijaron en FAA (formaldehído-ácido acético glacial-alcohol-agua 5:5:45:45; Johansen, 1940) durante 48 horas y se almacenaron en GAA (glicerol-alcohol-agua 1:2:2; Sass, 1958) hasta su procesamiento. En el caso del material herborizado, los fragmentos del pecíolo previamente se rehidrataron siguiendo la técnica de Lactofenol (Peña & Saralegui, 1982). Utilizando el protocolo de inclusión en parafina (Johansen, 1940) y empleando un micrótopo de rotación Leica RM2125, se obtuvieron cortes transversales de 12-20 μm de grosor, los cuales se tiñeron con Safranina-azul de Astra (Kraus & Arduin, 1997) y montaron con Entellan®Neu (Merck, Alemania). De manera complementaria, en cortes de material fresco y procesado, se realizaron las siguientes pruebas histoquímicas: floroglucina-ácido clorhídrico para evidenciar lignina, yodo en cloruro de zinc para celulosa, cloruro férrico al 10% para taninos, lugol para determinar la presencia de almidones (Johansen, 1940; Curtis, 1986) y solución de Fehling para la presencia de azúcares reductores en nectarios (Díaz-Castelazo *et al.*, 2005). Las observaciones se hicieron en un microscopio óptico Olympus BX41, al que se le adaptó una cámara Olympus C5060 para tomar las fotomicrografías.

Con la información obtenida se creó una matriz de datos con 16 caracteres cualitativos y siete cuantitativos, de estos últimos se obtuvo

Tabla 1. Lista de especies y datos de los especímenes de respaldo recolectados en México.

Especie	No. de colecta y No. de registro UAMIZ	Localidad	Vegetación y altitud en m s.n.m.
<i>Campyloneurum amphostenon</i> (Kunze ex Klotzsch) Fée	SLE 69 (UAMIZ-86870)	Santiago Xiacui, Oaxaca	BPE, 2537 m
	AMR 2502 (UAMIZ-90939)		
<i>Campyloneurum costatum</i> (Kunze) C. Presl	SLE 82 (UAMIZ-86877)	Maravilla Tenejapa, Chiapas	BTP, 265 m
<i>Microgramma lycopodioides</i> (L.) Copel.	SLE 57 (UAMIZ-86885)	Catemaco, Veracruz	Restos de BTP, 325
	AMR 2474 (UAMIZ-90937)		
<i>Microgramma percussa</i> (Cav.) de la Sota	AMR 170 (UAMIZ-47298)	Chicoasén, Chiapas	VS con encinos, 1010 m
	SLE 83 (UAMIZ-86880)	Maravilla Tenejapa, Chiapas	BTP, 265 m
	SLE 87 (UAMIZ-86879)	La Trinitaria, Chiapas	VS, 1400 m
<i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger	SLE 44 (UAMIZ-86887)	Juan Galindo, Puebla	BMM, 1245 m
	SLE 60 (UAMIZ-86890)	Santiago Comaltepec, Oaxaca	BMM, 1136 m
<i>Pecluma alfredii</i> var. <i>cupreolepis</i> (A. M. Evans) A. R. Sm.	SLE 18 (UAMIZ-86893)	Molango de Escamilla, Hidalgo	BMM, 1507 m
	SLE 19 (UAMIZ-86895)		
<i>Pecluma ferruginea</i> (M. Martens & Galeotti) M. G. Price	JCR 2331 (UAMIZ-90932)	Zacapoaxtla, Puebla	Restos de BMM, 1400 m
	AMR 2507 (UAMIZ-90940)	Tlayacapan, Morelos	BE con leguminosas, 1710 m
	SLE 77 (UAMIZ-86898)	Tepoztlán, Morelos	BPE, 1700 m
SLE 80 (UAMIZ-86901)			
<i>Pecluma hartwegiana</i> (Hook.) F. C. Assis & Salino	SLE 57 (UAMIZ-86885)	Santiago Comaltepec, Oaxaca	BPE, 2843 m
	AMR 2501 (UAMIZ-90938)		
<i>Phlebodium decumanum</i> (Willd.) J. Sm.	SLE 48 (UAMIZ-86908)	Cotaxtla, Veracruz	Potrero, 15 m
	SLE 49 (UAMIZ-86909)	Tesechoacán, Veracruz	Potrero, 1 m
<i>Pleopeltis astrolepis</i> (Liebm.) E. Fourn.	SLE 72 (UAMIZ-86928)	San Andrés Tuxtla, Veracruz	BTP, 163 m
	SLE 50 (UAMIZ-86926)	Catemaco, Veracruz	VS, 385 m
	SLE 56 (UAMIZ-86927)	Catemaco, Veracruz	Restos de BTP, 325 m
	AMR 2361 (UAMIZ-90935)	Capulálpam de Méndez, Oaxaca	BC, 3012 m
<i>Pleopeltis madrensis</i> (J. Sm.) A. R. Sm. & Tejero	RAC 9 (UAMIZ-86921)	Chilchotla, Puebla	BPE, 2916 m
	SLE 13 (UAMIZ-86931)	Milpa Alta, CDMX	BP, 2340 m
	SLE 14 (UAMIZ-86917)	Mineral del Chico, Hidalgo	BE con <i>Abies</i> , 2678
<i>Pleopeltis thysanolepis</i> (A. Braun ex Klotzsch) E. G. Andrews & Windham	AMR 2353 (UAMIZ-90934)	Capulálpam de Méndez, Oaxaca	BMM, 2004 m
	AMR 2405 (UAMIZ-90936)	Landa de Matamoros, Querétaro	BEP, 1635
	SLE 11 (UAMIZ-86919)	Milpa Alta, CDMX	VS derivada de BP, 2340 m
<i>Pleopeltis villagrani</i> (Copel.) A. R. Sm. & Tejero	AMR 2202 (UAMIZ-78684)	Pahuatlán, Puebla	BPE, 1866 m
	SLE 20 (UAMIZ-86911)	Molango de Escamilla, Hidalgo	BMM, 1507 m
	SLE 32 (UAMIZ-86915)	San Bartolo Tutotepec, Hidalgo	BMM, 855 m
	SLE 46 (UAMIZ-86930)	Juan Galindo, Puebla	BMM, 1245 m
<i>Polypodium puberulum</i> Schldl. & Cham.	RAC 18 (UAMIZ-87047)	Ayahualulco, Veracruz	BPE, 2500 m
<i>Serpocaulon dissimile</i> (L.) A. R. Sm.	SLE 88 (UAMIZ-87061)	La Trinitaria, Chiapas	VS, 1400 m
<i>Serpocaulon falcaria</i> (Kunze) A.R. Sm.	SLE 63 (UAMIZ-87062)	Santiago Comaltepec, Oaxaca	BMM, 1499 m
	SLE 64 (UAMIZ-87065)	Santiago Comaltepec, Oaxaca	BMM, 1626 m

Abreviaturas= UAMIZ: Acrónimo del Herbario Metropolitano de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa, México. Colectores: AMR: Aniceto Mendoza Ruiz; JCR: Jacqueline Ceja Romero; RAC: Rubén Agustín Camacho; SLE: Sarahi Luis Enríquez. Vegetación: BC: bosque de coníferas; BE: bosque de encino; BEP: bosque de encino-pino; BMM: bosque mesófilo de montaña; BP: bosque de pino; BPE: bosque de pino-encino; BTP: bosque tropical perennifolio; VS: vegetación secundaria (Tipos de vegetación según Rzedowski, 1978).

Tabla 2. Caracteres anatómicos evaluados en los pecíolos de las 16 especies estudiadas. Acrónimos entre paréntesis. Abreviatura= BC: banda circumendodermal.*Tomado como el promedio de la zona adaxial, abaxial y lateral (Mahley *et al.*, 2018). **Con respecto al lumen celular.

Caracteres cualitativos	Caracteres cuantitativos
1. Surco dorsal (SD) 0= presente; 1= ausente	17. Diámetro del pecíolo en eje lateral (DEL)
2. Aeróforos (Ae) 0= presente; 1= ausente	18. Diámetro del pecíolo en eje dorsiventral (DED)
3. Alas (Al) 0= presente; 1= ausente	19. Largo de las alas (LAI)
4. Nectarios (Ne) 0= presente; 1= ausente	20. Grosor de la cutícula (GC)
5. Derivados epidérmicos (DE) 0= ausentes; 1= pelos; 2= escamas; 3= pelos y escamas	21. Grosor de la epidermis (GE)
6. Forma de las células epidérmicas (FCE) 0= cuadradas; 1= isodiamétricas; 2= ambas	22. Grosor del córtex externo* (GCE)
7. Epidermis esclerosada (EE) 0= presente; 1= ausente	23. Número de haces vasculares (NHV)
8. Tipo de córtex externo (CE) 1= tipo 1; 2= tipo 2; 3= tipo 3; 4= tipo 4	
9. Continuidad del córtex externo (CCE) 1= continuo; 2= discontinuo	
10. Contenido celular del córtex interno (CI) 0= ausente; 1= taninos; 2= almidones; 3= ambos	
11. Presencia de la BC (PBC) 0= presente; 1= ausente	
12. Continuidad de la BC (CBC) 0= sin BC; 1= continua; 2= discontinua	
13. Proporción de engrosamiento de la BC** (PEBC) 0= sin BC; 1= -¼ del lumen; 2= ¼; 3= ½; 4= ¾; 5= total del lumen; 6= más de una capa de células con BC	
14. Forma de los engrosamientos de la BC (FBC) 0= sin BC; 1= casquete; 2= forma de U	
15. Fusión de los haces vasculares de mayor tamaño (FHV) 1= sin fusionar; 2= parcialmente fusionados; 3= fusionados	
16. Estratos del periciclo (EP) 1= 1; 2= 1-2; 3= 1-3; 4= 1-4	

la media a partir de 20 mediciones por muestra (Tabla 2). Se realizó un análisis de agrupamiento con el método de distancia euclidiana como índice de similitud y la técnica de ligamiento de las medias aritméticas no ponderadas (UPGMA), así como un análisis de componentes principales, para lo anterior se utilizó el programa NCSS 12 Statistical Software, 2018 (NCSS, Kaysville, Utah, USA, ncss.com/software/ncss).

Finalmente se elaboraron las ilustraciones de los cortes para mostrar la forma del contorno, la distribución del esclerénquima y de los haces vasculares. Para las descripciones de las características del contorno se siguió la propuesta de Ummu-Hani *et al.* (2013), quienes determinan de manera independiente la forma de la cara adaxial y la abaxial del pecíolo, delimitando ambas superficies a partir de los aeróforos o de las alas (Tabla 3).

RESULTADOS

Se detallan las diferencias cualitativas y cuantitativas más relevantes registradas para cada uno de los caracteres de las especies estudiadas (Tablas 4 y 5).

Contorno

A lo largo del pecíolo la forma del contorno en la superficie adaxial es ampliamente convexa, arco convexa, estrechamente convexa, plana o semicircular, mientras que en la superficie abaxial varió de semicircular, $\frac{3}{4}$ de círculo, arco convexa o en forma de U (Tabla 3, Figs. 1-6). Únicamente en las especies de *Pecluma*, los contornos fueron semicirculares en ambas superficies (Fig. 1P-X).

La presencia de un surco dorsal fue evidente en las dos especies de *Campyloneurum*, en *Niphidium crassifolium* y en *Serpocaulon falcaria* (Fig. 1B-C, E-F, N-O, 2V-X).

En sección transversal todas las especies tienen epidermis uniestratificada con células isodiamétricas y cuadradas; en los representantes de *Campyloneurum*, *Polypodium* y *Serpocaulon*, así como en *Phlebodium decumanum*, las paredes celulares son gruesas y esclerosadas (Fig. 7A), en el resto de los taxones (Fig. 7B-D), las paredes son delgadas y no esclerosadas.

El diámetro del pecíolo mostró diferencias (Tabla 5), las mayores dimensiones se presentan en *Niphidium crassifolium* y *Phlebodium decumanum*, mientras que *Microgramma lycopodioides* y *Pleopeltis astrolepis* tiene las menores.

Indumento

En las especies de *Pecluma* y *Polypodium*, así como en *Serpocaulon dissimile*, se presentaron pelos uniseriados de 2-3 células de longitud (Fig. 7E-F). En *Serpocaulon falcaria* y en los representantes de *Pleopeltis* se encontraron escamas peltadas (Fig. 7G-H). En *Microgramma percussa* también se observaron escamas peltadas, acompañadas de pelos glandulares insertos en su base (Fig. 7I).

Nectarios

En *Campyloneurum amphostenon* y *C. costatum* se observaron cavidades en la superficie del pecíolo, las cuales por sus características y resultado positivo a la prueba de Fehling (Fig. 7J), se reconocieron como nectarios foliares no vascularizados (*cf.* Weber & Keeler, 2012). También se observaron nectarios en la superficie abaxial de la lámina en la unión de las venas laterales principales con la vena media.

Aeróforos y alas

Los aeróforos estuvieron presentes en *Phlebodium decumanum*, *Polypodium puberulum*, *Pecluma hartwegiana* y las especies de *Serpocaulon*. Éstos se hallan constituidos internamente por parénquima con amplios espacios intercelulares y estomas en la superficie, interrumpiendo así la continuidad del córtex externo (Fig. 7K-L); estas estructuras en apariencia externa se observan como dos líneas pálidas en la superficie del pecíolo.

En la porción media y apical del pecíolo de *Pecluma alfredii* var. *cupreolepis*, *P. ferruginea* y de las especies de *Pleopeltis* se presentaron alas (Figs. 1Q-R, T-U; 2D-F, I, K-L, 4E-F, H-I, 5A-C, E-F), mientras que en *Campyloneurum*, *Microgramma* y *Niphidium crassifolium*, la base de la lámina es decurrente (Fig. 1C, F, G-I, N-O; 3C, F-I; 4B-C), en todos los casos hay estomas en la superficie y el córtex externo se interrumpe por debajo de ellas, salvo en *Pecluma alfredii* var.

Tabla 3. Descripción de la forma del contorno en la cara adaxial / cara abaxial del pecíolo de las especies examinadas.

Especies	Forma del contorno		
	Región basal	Región media	Región apical
<i>Campyloneurum amphostenon</i>	Ampliamente convexo / semicircular	Ampliamente convexo con surco tenue / semicircular	Ampliamente convexo con surco tenue / arco convexo
<i>C. costatum</i>	Arco convexo con surco tenue / semicircular	Arco convexo con surco / semicircular	Arco convexo con surco / semicircular
<i>Microgramma lycopodioides</i>	Arco convexo / arco convexo	Arco convexo / ampliamente convexo	Arco convexo / ampliamente convexo
<i>M. percussa</i>	Ampliamente convexo / semicircular	Ampliamente convexo / semicircular	Ampliamente convexo / semicircular
<i>Niphidium crassifolium</i>	Semicircular / semicircular	Ampliamente convexo con surco / forma de "U"	Ampliamente convexo con surco / forma de "U"
<i>Pecluma alfredii</i> var. <i>cupreolepis</i>	Semicircular / semicircular	Arco convexo / semicircular	Arco convexo / semicircular
<i>P. ferruginea</i>	Semicircular / semicircular	Arco convexo / semicircular	Arco convexo / ¾ de círculo
<i>P. hartwegiana</i>	Semicircular / semicircular	Semicircular / semicircular	Semicircular / semicircular
<i>Phlebodium decumanum</i>	Ampliamente convexo / ¾ de círculo	Ampliamente convexo / ¾ de círculo	Ampliamente convexo / ¾ de círculo
<i>Pleopeltis astrolepis</i>	Arco convexo / arco convexo	Arco convexo / arco convexo	Arco convexo / arco convexo
<i>P. madrensis</i>	Estrechamente convexo / ¾ de círculo	Estrechamente convexo / ¾ de círculo	Estrechamente convexo / semicircular
<i>P. thyssanolepis</i>	Plano / ¾ círculo	Ampliamente convexo / ¾ de círculo	Arco convexo / semicircular
<i>P. villagrani</i>	Semicircular / semicircular	Arco convexo / arco convexo	Arco convexo / arco convexo
<i>Polypodium puberulum</i>	Ampliamente semicircular / semicircular	Ampliamente convexo / ¾ de círculo	Ampliamente convexo / forma de u
<i>Serpocaulon dissimile</i>	Ampliamente convexo / ¾ de círculo	Ampliamente convexo / ¾ de círculo	Semicircular / ¾ de círculo
<i>S. falcaria</i>	Ampliamente convexo / semicircular	Ampliamente convexo con surco / semicircular	½ de cuadrado / semicircular

cupreolepis y *P. ferruginea* en donde es continuo (Fig. 1P-U; Fig. 4D-I).

Córtex

Se diferenció en dos zonas: la externa y la interna. El córtex externo se ubica por debajo de la epidermis, forma un anillo discontinuo debido a la presencia de aeróforos y/o alas (Figs. 5B-C, 6A-C, 7K-L), con excepción de *Pecluma alfredii* var. *cupreolepis* y *P. ferruginea* donde es continuo a lo largo de todo el pecíolo (Figs. 4D-I, 8A). En todas las especies estudiadas está conformado por esclerénquima, sin embargo,

se observaron diferencias en el engrosamiento de las paredes celulares, el tamaño del lumen y la presencia de taninos impregnados en las paredes celulares o en el interior del lumen, reconociéndose cuatro tipos de córtex externo. En el tipo 1, todas las células son de un tamaño uniforme con presencia de taninos en su interior, de paredes ligeramente engrosadas y lignificadas, con un cambio al córtex interno gradual (Fig. 4A-C, 7A). En el tipo 2, las células tienen una gradación en el tamaño, de menor a mayor de afuera hacia adentro, y el grosor de las paredes va disminuyendo en el mismo sentido, mostrándose

Tabla 4. Caracteres anatómicos cualitativos del pecíolo de 16 especies analizadas. Abreviaturas= Deriv. epid.: derivados epidérmicos. Tipos de derivados epidérmicos/indumento: E: escamas; P: pelos. Epidermis: Es: esclerosada; Pa: parenquimatosa. Córtex externo: Cont.: continuidad, Co: continua, Di: discontinua. Sustancias ergásticas en el córtex interno: Al: almidones; Ta: taninos. Banda circundodermal: Pres.: presencia; Cont.: continuidad; Prop.: proporción de engrosamiento con respecto al lumen celular, Forma de los engrosamientos; C: en casquete (paredes periclinales internas); U: en "U" (paredes periclinales internas y anticlinales); +: presente, -: ausente.

Especies	Surco dorsal	Alas	Aeróforos	Nectarios	Deriv. epid.	Epidermis	Córtex externo		Córtex interno	Banda circundodermal			
							Tipo	Cont.		Pres.	Cont.	Prop.	Forma
<i>Campyloneurum amphostenon</i>	+	+	-	+	-	Es	2	Di	Al	+	Co	1/4	C
<i>C. costatum</i>	+	+	-	+	-	Es	2	Di	Al	+	Co	1/2	C
<i>Microgramma lycopodioides</i>	-	+	-	-	-	Pa	1	Di	Al	+	Co	3/4-1	U
<i>M. percuta</i>	-	+	-	-	P y E	Pa	1	Di	Al	+	Co	1	U
<i>Niphidium crassifolium</i>	+	+	-	-	-	Pa	1	Di	Ta	+	Co	1/4-1/2	U
<i>Pecluma alfredii</i> var. <i>cupreolepis</i>	-	+	-	-	P	Pa	4	Co	Al	-	-	-	C
<i>P. ferruginea</i>	-	+	-	-	P	Pa	4	Co	Al	-	-	-	-
<i>P. hartwegiana</i>	-	-	+	-	P	Es	2	Di	Al	+	Co	1/2-3/4	C
<i>Phlebodium decumanum</i>	-	-	+	-	-	Es	2	Di	Al	+	Co	-o 1/4	C
<i>Pleopeltis astrolepis</i>	-	+	-	-	E	Pa	3	Di	Ta	+	Di	1/2-3/4	C
<i>P. madrensis</i>	-	+	-	-	E	Pa	3	Di	Al	+	Di	1/4	C
<i>P. thyssanolepis</i>	-	+	-	-	E	Pa	3	Di	Al	+	Di	-o 1/4-1/2	C
<i>P. vilagranae</i>	-	+	-	-	E	Pa	3	Di	Al	+	Di	-o 1/4-1	C
<i>Polypodium puberulum</i>	-	-	+	-	P	Es	2	Di	-	+	Co	3/4-1/2	C
<i>Serpocaulon dissimile</i>	-	-	+	-	P	Es	2	Di	Al	+	Co	1/2-3/4	C
<i>S. falcaria</i>	+	-	+	-	E	Es	2	Di	Al	+	Co	1/2-3/4	C

Tabla 5. Caracteres anatómicos cuantitativos considerados en el estudio. Los datos se presentan como: media ± desviación estándar. B: región basal; M: región media; A: región apical. Promedio de las tres regiones en grosor de la epidermis y la cutícula.

Especies	Diámetro del peciolo eje lateral x eje dorsiventral (mm)			Largo de las alas (mm)			Grosor de la epidermis (µm)		Grosor de la cutícula (µm)		Núm. de haces vasculares			
	B	M	A	B	M	A	B	M	B	M	A	B	M	A
<i>Campyloneurum amphostenon</i>	3,8 ± 0,28 x 2,8 ± 0,2	3,5 ± 0,23 x 2,3 ± 0,15	4,2 ± 0,17 x 2,1 ± 0,15	-	0,4 ± 0,09	0,9 ± 0,16	19,9 ± 2,5	3,1 ± 0,7	6-7	5-6	3-4	3-4		
<i>C. costatum</i>	1,4 ± 0,2 x 1,3 ± 0,12	1 ± 0,08 x 1,1 ± 0,1	1 ± 0,1 x 1,2 ± 0,12	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,03	0,3 ± 0,03	18,5 ± 1,4	1,1 ± 0,1	4-5	3-4	2-3			
<i>Microgramma lycopodioides</i>	0,7 ± 0,1 x 0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,07 x 0,5 ± 0,02	0,5 ± 0,05 x 0,6 ± 0,03	0,2 ± 0,03	0,4 ± 0,13	0,6 ± 0,21	19 ± 1,2	0,9 ± 0,1	2	2	2			
<i>M. percutosa</i>	1,5 ± 0,14 x 1 ± 0,14	1,4 ± 0,13 x 1 ± 0,08	1,4 ± 0,12 x 1 ± 0,06	-	0,1 ± 0,04	0,2 ± 0,13	25 ± 1,9	1,8 ± 0,5	2-4	2-3	2-3			
<i>Niphidium crassifolium</i>	6,2 ± 0,83 x 5,6 ± 0,71	5,6 ± 0,89 x 5,1 ± 0,72	5,6 ± 0,44 x 5,3 ± 0,69	0,1 ± 0,05	1,8 ± 0,19	2,7 ± 0,51	26,5 ± 2,2	0,9 ± 0,1	11-13	9-11	6-9			
<i>Pectuma alfredii</i> var. <i>cupreolepis</i>	1,3 ± 0,38 x 1,2 ± 0,32	0,8 ± 0,2 x 0,8 ± 0,22	0,9 ± 0,2 x 0,9 ± 0,21	0,1 ± 0,03	0,1 ± 0,07	0,2 ± 0,06	16,8 ± 4,6	1,3 ± 0,8	2-3	1	1			
<i>P. ferruginea</i>	1,7 ± 0,31 x 1,6 ± 0,3	1,4 ± 0,25 x 1,4 ± 0,23	1,3 ± 0,22 x 1,4 ± 0,25	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,03	0,1 ± 0,03	25 ± 3,3	0,7 ± 0,1	2-3	1	1			
<i>P. hartwegiana</i>	1,3 ± 0,26 x 1,2 ± 0,21	1 ± 0,12 x 1 ± 0,12	1 ± 0,08 x 1 ± 0,09	-	-	-	15,1 ± 2,3	1,3 ± 0,2	3	1	1			
<i>Phlebodium decumanum</i>	5,4 ± 0,93 x 4,7 ± 0,82	3,9 ± 0,53 x 3,5 ± 0,38	3,4 ± 0,37 x 3,2 ± 0,21	-	-	-	14,3 ± 2,9	1,4 ± 0,1	12-20	10-13	6-9			
<i>Pleopeltis astrolepis</i>	0,7 ± 0,06 x 0,5 ± 0,06	0,9 ± 0,35 x 0,7 ± 0,33	0,7 ± 0,16 x 0,5 ± 0,06	0,2 ± 0,08	0,4 ± 0,21	0,6 ± 0,14	22,1 ± 2,3	1,5 ± 0,5	2	2	2			
<i>P. madrensis</i>	1,6 ± 0,27 x 1,4 ± 0,31	1,4 ± 0,3 x 1,3 ± 0,25	1,2 ± 0,18 x 1,2 ± 0,16	0,1 ± 0,03	0,2 ± 0,08	0,4 ± 0,05	17,4 ± 2,6	3,3 ± 0,5	2-3	2	1-2			
<i>P. thyssanolepis</i>	1,8 ± 0,44 x 1,5 ± 0,45	1,7 ± 0,4 x 1,3 ± 0,35	1,7 ± 0,34 x 1,3 ± 0,31	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,04	0,4 ± 0,2	23,1 ± 4,9	1,3 ± 0,4	3-6	2-3	2-3			
<i>P. villagranae</i>	1,1 ± 0,13 x 0,9 ± 0,15	1 ± 0,08 x 0,9 ± 0,06	0,8 ± 0,07 x 0,9 ± 0,09	-	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,02	25,4 ± 3	2,2 ± 0,5	2-3	1	1			
<i>Polypodium puberulum</i>	1,9 ± 0,43 x 1,8 ± 0,42	1,8 ± 0,31 x 1,7 ± 0,28	1,6 ± 0,23 x 1,8 ± 0,29	-	-	-	16,5 ± 1,6	1,4 ± 0,2	4-5	2-4	2			
<i>Serpocaulon dissimile</i>	1,7 ± 0,04 x 1,5 ± 0,07	1,3 ± 0,02 x 1,3 ± 0,02	1,2 ± 0,04 x 1,3 ± 0,07	-	-	-	18 ± 1,9	0,7 ± 0,1	7-9	3-5	2-3			
<i>S. falcaria</i>	3,2 ± 0,58 x 2,7 ± 0,54	2,3 ± 0,39 x 1,8 ± 0,30	2,1 ± 0,33 x 1,8 ± 0,27	-	-	-	15,4 ± 1,7	0,7 ± 0,1	5-7	4-5	3-5			

así una transición gradual hacia el córtex interno (Fig. 3J-L, 7B). En el tipo 3, también hay una transición gradual hacia el córtex interno tanto en el tamaño de las células como en el grosor de las paredes, el cual va disminuyendo de afuera hacia adentro, de manera que las células adyacentes a la epidermis tienen las paredes tan engrosadas que llegan a obliterar el lumen y además están impregnadas de taninos (Fig. 5G-H, 6D). En el tipo 4, todas las células son de tamaño uniforme con paredes muy engrosadas que obliteran por completo el lumen y con taninos impregnados, el cambio al córtex interno es marcado (Fig. 4D-I, 7C).

El córtex interno, en general está conformado por células de parénquima isodiamétricas, con granos de almidón (Fig. 8B) y espacios intercelulares más marcados que en la zona externa. En el córtex de *Campyloneurum amphostenon*, *Pleopeltis madrensis*, *P. thyssanolepis*, *Pecluma* y *Polypodium*, se observan cavidades o espacios intercelulares de distinta extensión (Fig. 8C-E).

Banda circumendodermal

Los haces vasculares de casi todas las especies se encontraron rodeados por una capa de células con paredes engrosadas compuesta por celulosa y taninos impregnados, la cual corresponde a la banda circumendodermal (BC) (Fig. 8F-G). En los representantes de *Campyloneurum*, *Phlebodium*, *Pleopeltis*, *Polypodium* y *Serpocaulon*, los engrosamientos de la BC están dispuestos en forma de casquete (Fig. 8H), en *Niphidium crassifolium* y las especies de *Microgramma*, en forma de “U” (Fig. 8I), en *P. ferruginea* la BC no está presente (Fig. 8J) y en *P. alfredii* var. *cupreolepis* solamente en la región apical del pecíolo de algunos individuos se observó una BC discontinua (Fig. 8K).

Sistema vascular

En todas las especies los haces vasculares presentaron un patrón de distribución tipo *Polypodium* (Ogura, 1972), que se caracteriza porque en la región basal se presentan tres o más haces vasculares, de los cuales los dos adaxiales son más grandes que los abaxiales y se distribuyen en arco, con la apertura hacia la cara adaxial. En los haces mayores la configuración del xilema es en arco con las partes convexas

hacia el centro del pecíolo (Fig. 8L), y hacia la región apical del mismo los haces se van fusionando (Fig. 9A), de manera que el xilema adquiere configuraciones en “T”, “V” y “X” (Figs. 8K, 9B-D). Se presentaron variaciones en el tipo de distribución en *Microgramma lycopodioides* y *Pleopeltis astrolepis*, las cuales sólo presentaron dos haces (Fig. 1G-I, 2D-F, 3G-I, 5A-C), además, en *M. lycopodioides* y *Pleopeltis thyssanolepis* el xilema de los haces mayores mostró una configuración lineal (Fig. 9E).

En la mayoría de los taxones, el número y la forma en que se fusionan o dividen los cordones vasculares a lo largo del pecíolo corresponden a alguno de los 11 tipos de configuración propuestos por Tejero-Díez *et al.* (2010, Tabla 6), aunque con variaciones en el número de haces menores. Para *Microgramma* y *Pleopeltis astrolepis*, que no se ajustaron a ninguno de ellos, se añadieron los tipos IIb y IIIc.

Los haces vasculares, en todas las especies mostraron una disposición anficribal, con un mayor número de estratos de floema en las regiones cóncavas del xilema de los haces vasculares de mayor tamaño, así como mayor número de capas de periciclo (Fig. 8L).

Análisis numéricos

Como resultado del análisis de agrupamiento se obtuvo un dendrograma con un índice de correlación cofenética de 0,91 (Fig. 10), en donde cada individuo se agrupó con los de su especie correspondiente, con excepción de los representantes de *Pecluma alfredii* var. *cupreolepis*, ya que dos individuos de la especie (sin BC) anidaron con los representantes de *Pecluma ferruginea* y los otros dos (con BC discontinua), quedaron como un subconjunto cercano al conglomerado anterior. En el caso de las especies de *Campyloneurum*, *Microgramma*, *Pecluma*, *Pleopeltis* y *Serpocaulon*, cada una se agrupó con las de su género correspondiente, excepto *Pecluma hartwegiana* que se asoció con *Polypodium puberulum*.

En lo que respecta al análisis de componentes principales, los tres primeros componentes explican el 57,47 % de la variación total. Los caracteres anatómicos que más aportan a la diferenciación de los taxones son: para el primer componente (24,07 %), el diámetro del pecíolo en

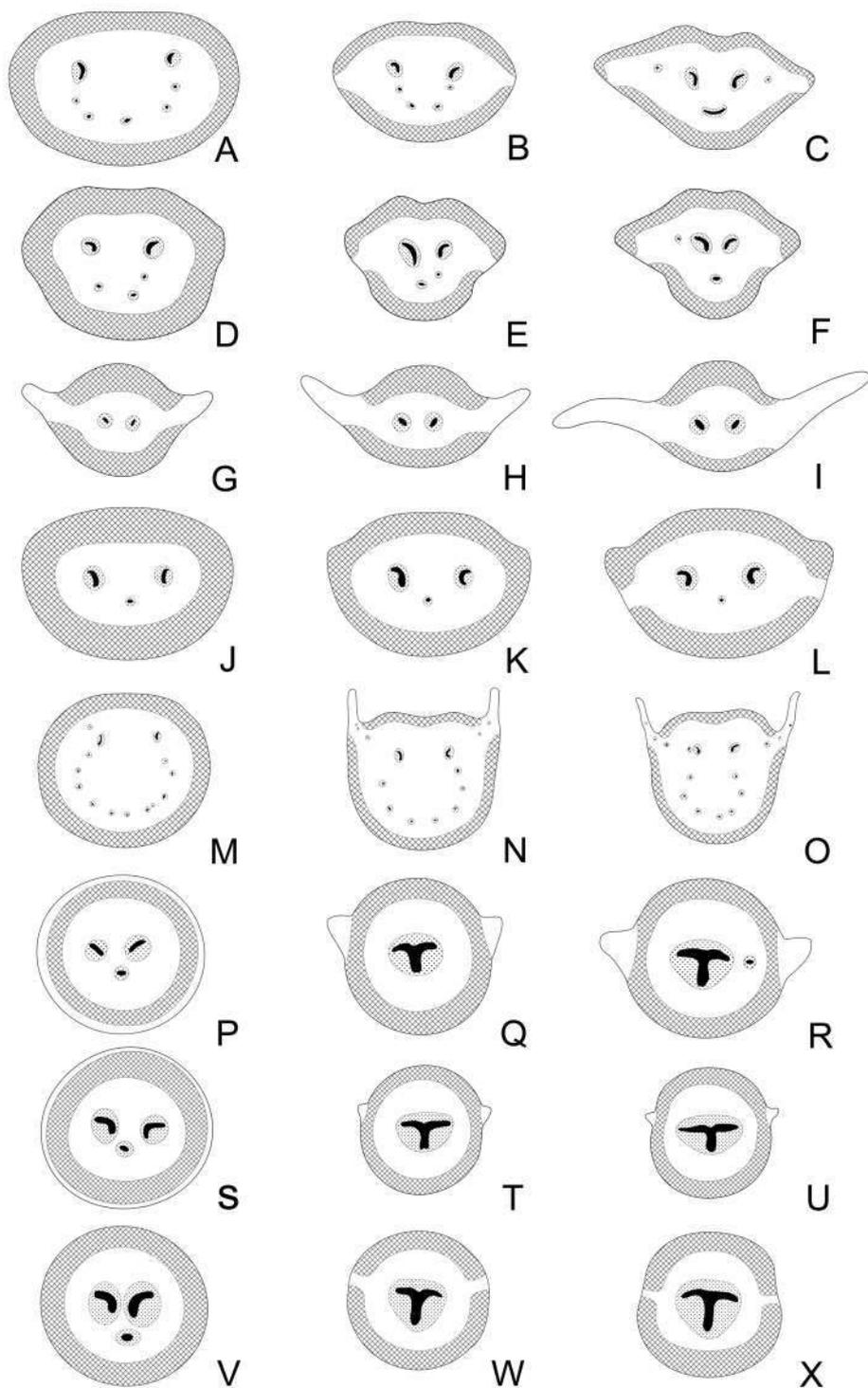


Fig. 1. Ilustraciones del contorno del peciolo en sección transversal de la región basal (A, D, G, J, M, P, S, V), media (B, E, H, K, N, Q, T, W) y apical (C, F, I, L, O, R, U, X). **A-C:** *Campyloneurum amphostenon*. **D-F:** *C. costatum*. **G-I:** *Microgramma lycopodioides*. **J-L:** *M. percussa*. **M-O:** *Niphidium crassifolium*. **P-R:** *Pecluma alfredii* var. *Cupreolepis*. **S-U:** *P. ferruginea*. **V-X:** *P. hatwegiana*. Reticula= esclerenquima, negro= xilema.

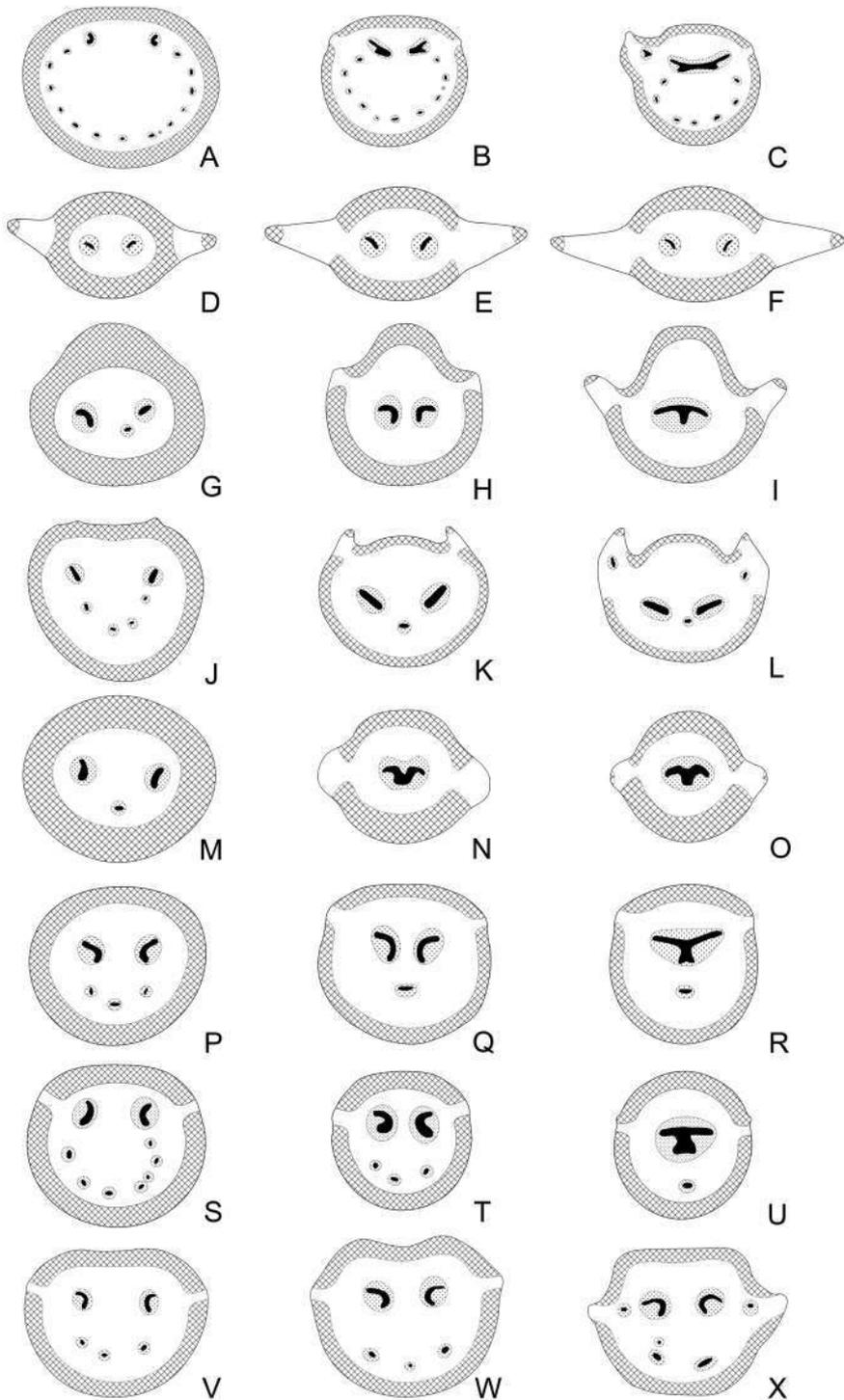


Fig. 2. Ilustraciones del contorno del pecíolo en sección transversal de la región basal (A, D, G, J, M, P, S, V), media (B, E, H, K, N, Q, T, W) y apical (C, F, I, L, O, R, U, X). **A-C.** *Phlebodium decumanum*. **D-F.** *Pleopeltis astrolepis*. **G-I.** *P. madrensis*. **J-L.** *P. thyssanolepis*. **M-O.** *P. villagranii*. **P-R.** *Polypodium puberulum*. **S-U.** *Serpocaulon dissimile*. **V-X.** *S. falcaria*. Retícula= esclerénquima, negro= xilema.

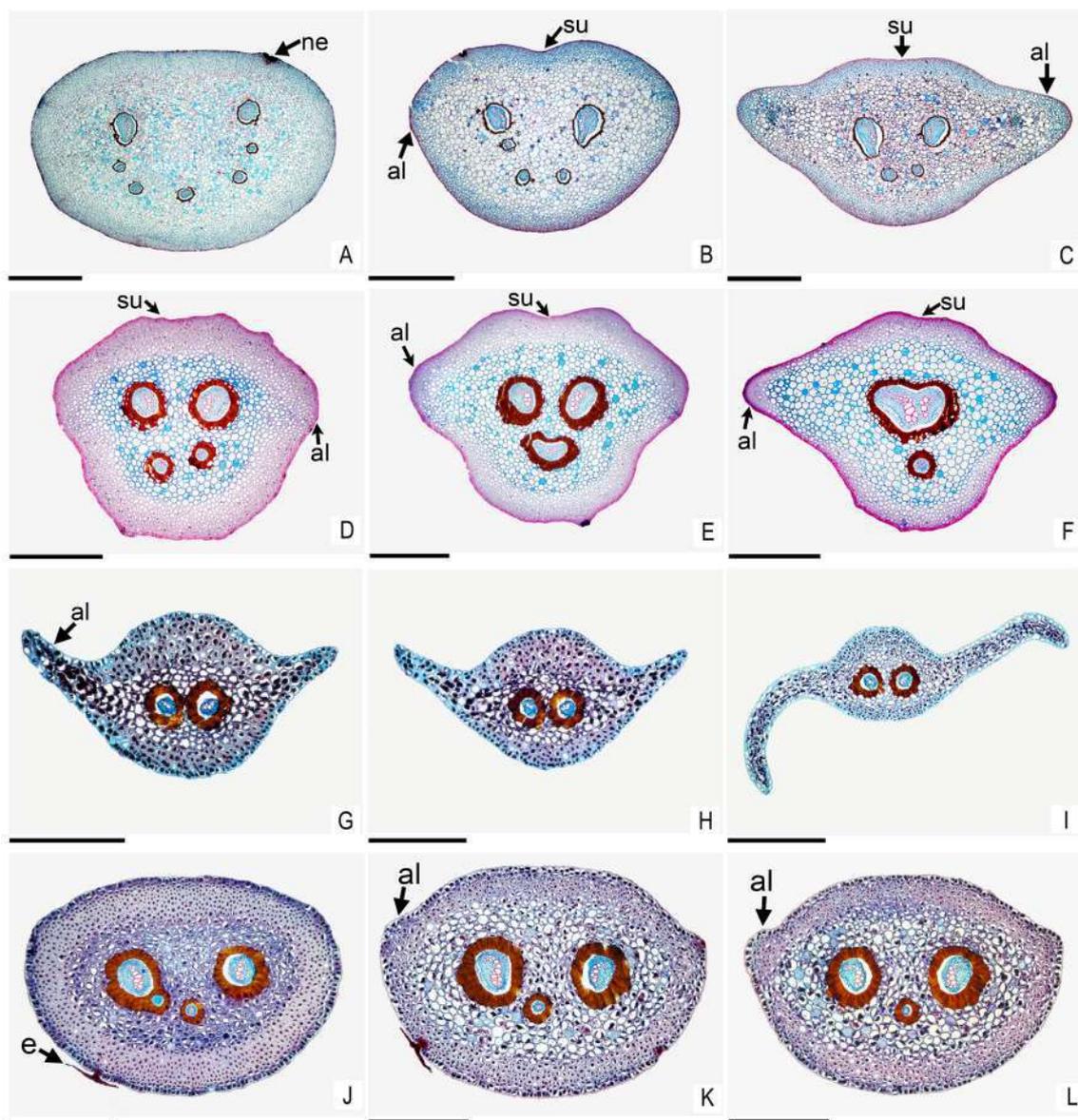


Fig. 3. Cortes transversales de la región basal (A, D, G, J), media (B, E, H, K) y apical (C, F, I, L) del peciolo. **A-C:** *Campyloneurum amphostenon*. **D-F:** *C. costatum*. **G-I:** *Microgramma lycopodioides*. **J-L:** *M. percussa*. Abreviaturas= al: ala; e: escama; ne: nectario; su: surco. Escalas= A-B: 1 mm; C: 900µm; D-F: 500 µm; G-H: 1 mm; I: 900 µm; J-L, P-R: 500 µm; M-N: 350 µm; N: 800 µm.

la región basal y el número de haces vasculares en la región media; para el segundo componente (18,38 %), la presencia de la BC en la región basal y la forma de los engrosamientos de la BC, y para el tercero (15,02 %), la presencia de

aeróforos o alas en la región media y apical (Tabla 7). Tomando como base la información anterior, se elaboraron las dos claves de identificación, una genérica y una específica, que a continuación se presentan.

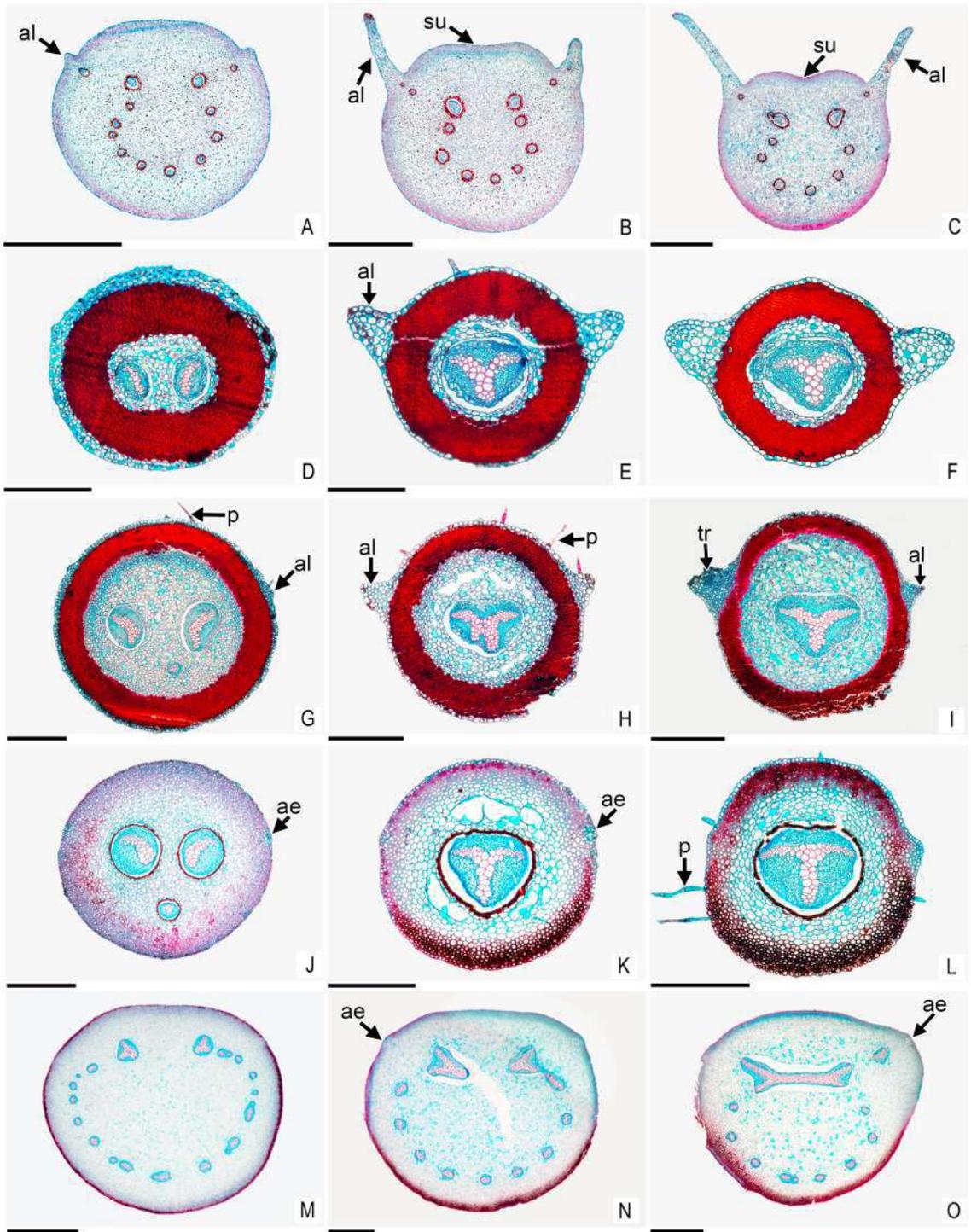


Fig. 4. Cortes transversales de la región basal (A, D, G, J, M), media (B, E, H, K, N) y apical del pecíolo. (C, F, I, L, O). **A-C:** *Niphidium crassifolium*. **D-F:** *Pecluma alfredii* var. *cupreolepis*. **G-I:** *P. ferruginea*. **J-L:** *P. hartwegiana*. **M-O:** *Phlebodium decumanum*. Abreviaturas= ae: aeróforo; al: ala; p: pelo; su: surco; tr: traza del ala. Escalas= A: 3 mm; B-C, M: 2 mm; D, J: 350 µm; E: 150 µm; F, H-I: 400µm; G, J, K: 500 µm; N-O: 1 mm.

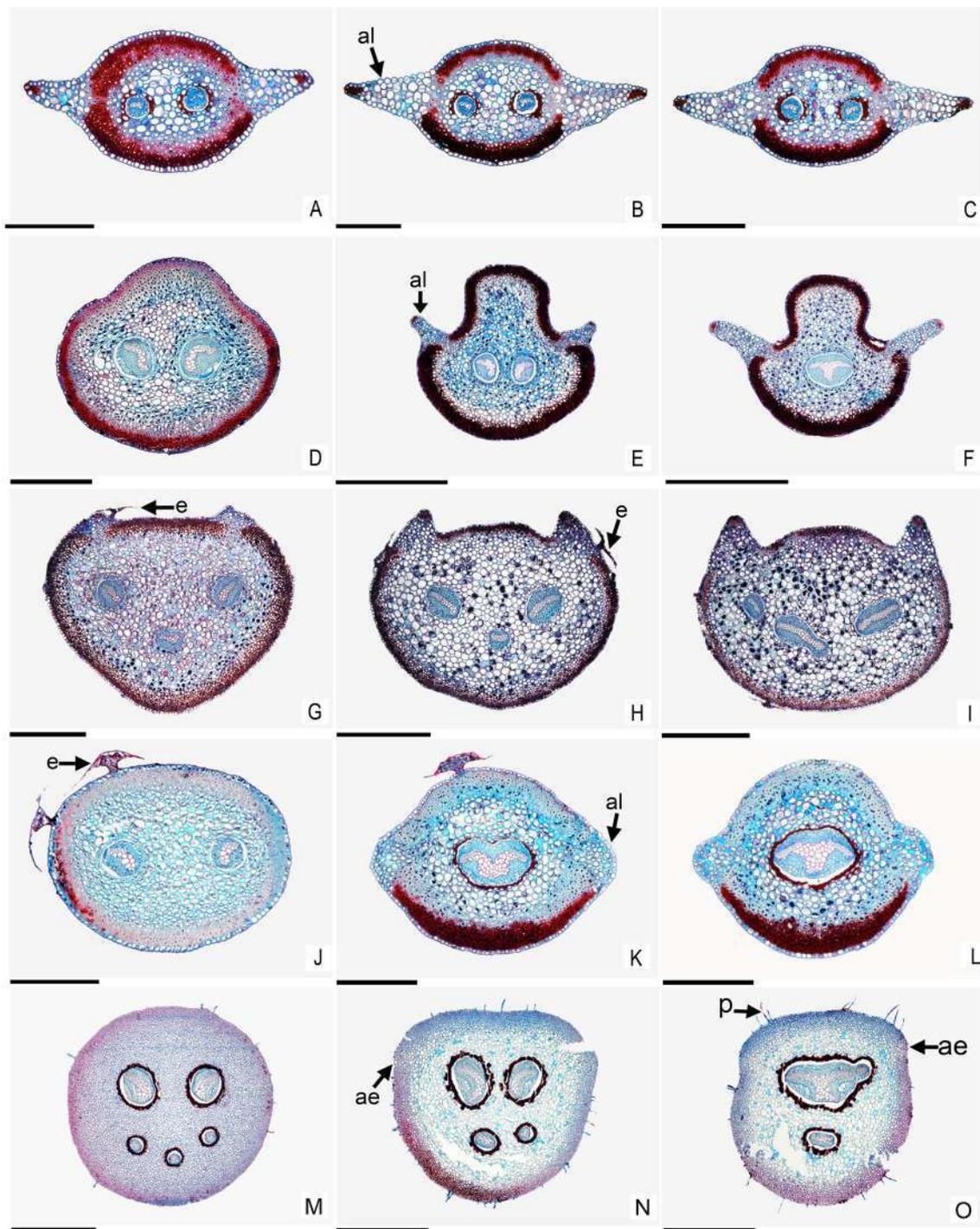


Fig. 5. Cortes transversales de la región basal (A, D, G, J, M), media (B, E, H, K, N) y apical del pecíolo (C, F, I, L, O). **A-C:** *Pleopeltis astrolepis*. **D-F:** *P. madrensis*. **G-I:** *P. thyssanolepis*. **J-L:** *P. villagrani*. **M-O:** *Polypodium puberulum*. Abreviaturas= ae: aeróforo; al: ala; e: escama; p: pelo. Escalas= A, J: 350 μ m; B-C, K-L: 400 μ m; D: 450 μ m; E-F: 800 μ m; G: 500 μ m; H-I: 600 μ m; M-O: 1 mm.

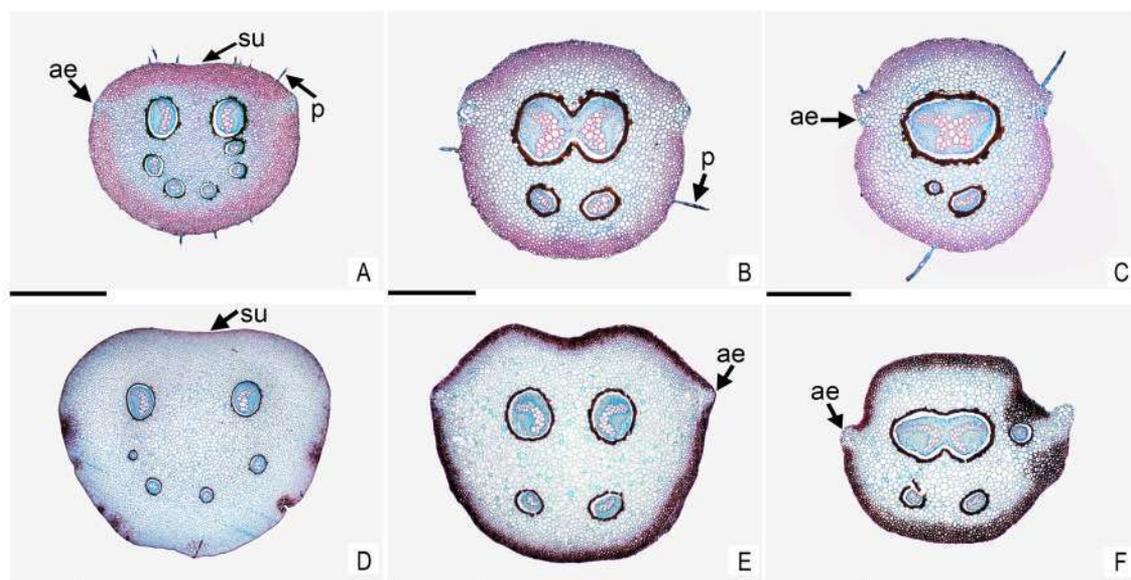


Fig. 6. Cortes transversales de la región basal (A, D), media (B, E) y apical del pecíolo. (C, F). **A-C:** *Serpocaulon dissimile*. **D-F:** *S. falcaria*. Abreviaturas= ae: aeróforo; p: pelo; su: surco. Escalas= A, E-F: 800 μ m; B-C: 500 μ m; D: 1 mm.

Clave para los géneros de la subfamilia Polypodioideae (sensu PPG I, 2016), considerados en este trabajo, con base en caracteres anatómicos del pecíolo.

1. Pecíolos con alas.

2. Pecíolos en la región basal >4 mm de diámetro en el eje lateral, con 11 o más haces vasculares.

Niphidium

- 2'. Pecíolos en la región basal <4 mm de diámetro en el eje lateral, con 8 o menos haces vasculares.

3. Cara adaxial del pecíolo con surco; células de la epidermis de paredes esclerosadas. *Campyloneurum*

- 3'. Cara adaxial del pecíolo sin surco; células de la epidermis de paredes delgadas.

4. Banda circumendodermal continua, con engrosamientos en "U".

Microgramma

- 4'. Banda circumendodermal ausente o si presente discontinua, con engrosamientos en casquete.

5. Alas del pecíolo con células esclerosadas en los ápices; escamas peltadas; córtex externo tipo 3, discontinuo.

Pleopeltis

- 5'. Alas del pecíolo sin células esclerosadas en el ápice; pelos multicelulares uniseriados; córtex externo tipo 4, continuo.

Pechuma

1'. Pecíolos sin alas, con aeróforos como dos líneas pálidas que se extienden a lo largo del pecíolo.

6. Pecíolo en la región basal con 12 o más haces vasculares; BC discontinua, con engrosamientos que abarcan menos de $\frac{1}{4}$ del lumen.

Phlebodium

- 6'. Pecíolo en la región basal con menos de 10 haces vasculares; BC continua, con engrosamientos que abarcan de $\frac{1}{2}$ a más del lumen.

7. Región basal del pecíolo con 5 o menos haces vasculares.

Polypodium

- 7'. Región basal del pecíolo con 5 a 9 haces vasculares.

Serpocaulon

Clave para las especies, consideradas en este trabajo, con base en caracteres anatómicos del pecíolo.

1. Córtez externo continuo; banda circumendodermal ausente o si presente discontinua.
 2. Región media del pecíolo de 0.5 a 1.1 mm de diámetro.

Pechuma alfredii var. *cupreolepis*
 - 2'. Región media del pecíolo de 1 a 1.8 mm de diámetro.

Pechuma ferruginea
- 1'. Córtez externo discontinuo; banda circumendodermal presente.
 3. Pecíolos con alas.
 4. Región basal del pecíolo >4 mm de diámetro en el eje lateral, con 11 o más haces vasculares.

Niphidium crassifolium
 - 4'. Región basal del pecíolo <4 mm de diámetro en el eje lateral, con 8 o menos haces vasculares.
 5. Células de la epidermis con paredes esclerosadas; surco dorsal presente.
 6. Región basal del pecíolo con 6 a 7 haces vasculares; BC engrosada a $\frac{1}{4}$ del lumen.

Campyloneurum amphostenon
 - 6'. Región basal del pecíolo con 4 a 5 haces vasculares; BC engrosada a más de $\frac{1}{2}$ del lumen.

Campyloneurum costatum
 - 5'. Células de la epidermis con paredes no esclerosadas; surco dorsal ausente.
 7. Córtez externo tipo 1; BC con engrosamientos en "U", continua, engrosada a más de $\frac{3}{4}$ del lumen.
 8. Pecíolos glabros; 2 haces vasculares en todo el pecíolo; un estrato de periciclo; xilema con configuración lineal.

Microgramma lycopodioides
 - 8'. Pecíolos con escamas peltadas y pelos glandulares por debajo de éstas; 3 a 4 haces vasculares en la región basal; dos estratos de periciclo en los haces mayores; xilema con configuración en arco.

Microgramma percussa
 - 7'. Córtez externo tipo 3; BC con engrosamientos en casquete, generalmente discontinua y engrosada menos de $\frac{3}{4}$ del lumen.
 9. Xilema con configuración lineal; de 3 a 6 haces vasculares en la región basal del pecíolo.

Pleopeltis thysanolepis
 - 9'. Xilema con configuración en arco; de 2 a 3 haces vasculares en la región basal del pecíolo.
 10. Haces vasculares sin fusionarse a lo largo del pecíolo.

Pleopeltis astrolepis
 - 10'. Haces vasculares fusionados sólo en la región apical.
 11. Región apical del pecíolo con BC discontinua, engrosada menos de $\frac{3}{4}$ del lumen.

Pleopeltis madreensis
 - 11'. Región apical del pecíolo con BC continua, engrosada más de $\frac{3}{4}$ del lumen.

Pleopeltis villagranii
 - 3'. Pecíolos sin alas, con aeróforos como dos líneas pálidas que se extienden a lo largo del pecíolo.
 12. Región basal del pecíolo con 12 o más haces vasculares; BC discontinua, con engrosamientos que abarcan menos de $\frac{1}{4}$ del lumen.

Phlebodium decumanum
 - 12'. Región basal del pecíolo con 10 o menos haces vasculares; BC continua, con engrosamientos que abarcan de $\frac{1}{2}$ a más del lumen.
 13. Región basal del pecíolo con 3 a 5 haces vasculares; grosor de la cutícula >1 μm .
 14. Región basal del pecíolo con 3 haces vasculares; BC engrosada a $\frac{1}{2}$; región apical del pecíolo con todos los haces fusionados.

Pechuma hartwegiana
 - 14'. Región basal del pecíolo de 4 a 5 haces vasculares; BC engrosada más de $\frac{3}{4}$ del lumen; región apical del pecíolo con un haz vascular menor y no fusionado al haz vascular mayor.

Polypodium puberulum
 - 13'. Región basal del pecíolo con 5 a más haces vasculares; grosor de la cutícula <1 μm .
 15. Pecíolos con escamas basifijas; 5 a 7 haces vasculares en región basal.

Serpocaulon falcaria
 - 15'. Pecíolos con pelos multicelulares uniseriados; 7 a 9 haces vasculares en la región basal.

Serpocaulon dissimile

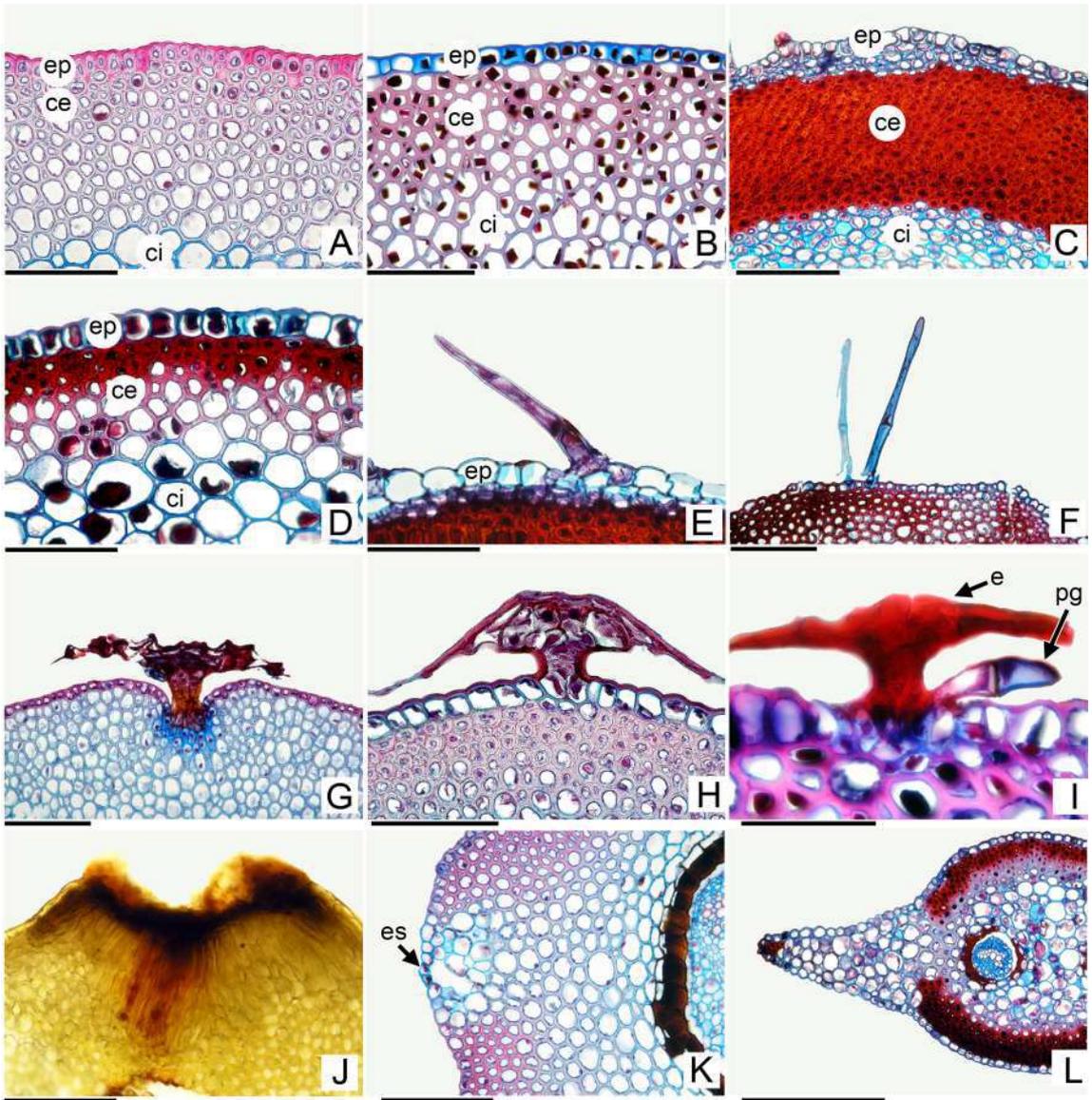


Fig. 7. Cortes transversales del pecíolo. **A:** Epidermis y córtex externo tipo 2 en *Campyloneurum costatum*. **B:** Epidermis y córtex externo tipo 1 en *Niphidium crassifolium*. **C:** Epidermis y córtex externo tipo 4 en *Pecluma alfredii* var. *cupreolepis*. **D:** Epidermis y córtex externo tipo 3 en *Pleopeltis thyssanolepis*. **E-F:** Pelo uniseriado, **E:** *Pecluma ferruginea*, **F:** *Pecluma hartwegiana*. **G:** Escama peltada, *Serpocaulon falcaria*. **H:** Escama peltada, *Pleopeltis villagrani*. **I:** Escama peltada con pelo glandular, *Microgramma percussa*. **J:** Prueba de Fehling en nectario, rojo indica reacción positiva a azúcares, *Campyloneurum amphostenon*. **K:** Detalle del aeróforo, *Serpocaulon dissimile*. **L:** Región apical de *Pleopeltis astrolepis* en donde se observa la interrupción del córtex externo. Abreviaturas= ce: córtex externo; ci: córtex interno; e: escama; ep: epidermis, es: estoma; pg: pelo glandular. Escalas= A, D-E, H: 100 µm; B-C, F-G, K: 150 µm; I: 50 µm; J: 200 µm; L: 350 µm.

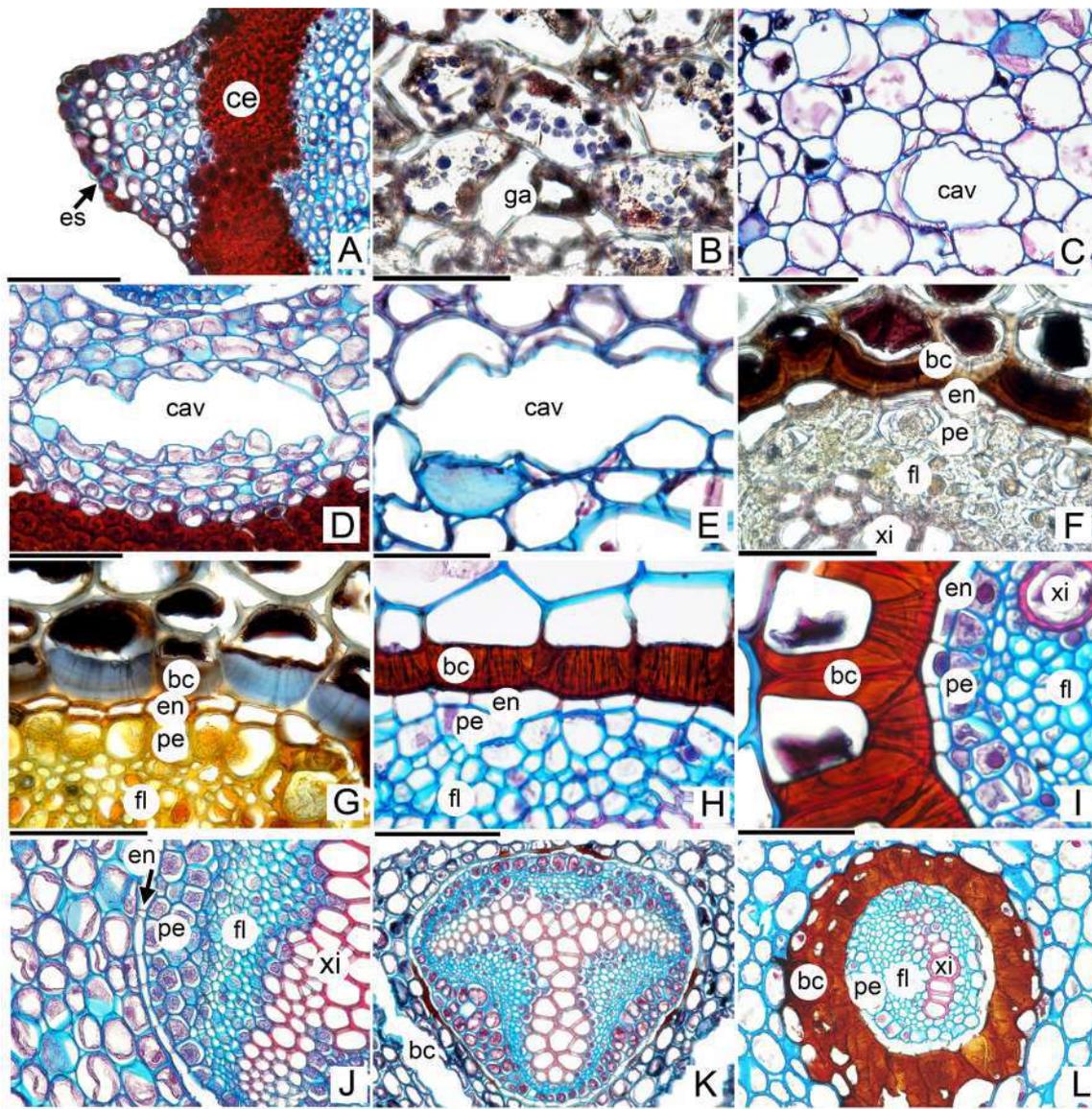


Fig. 8. Cortes transversales del peciolo. **A:** Ala y córtex externo continuo, *Pecluma alfredii* var. *cupreolepis*. **B:** Prueba de lugol, granos de almidón en el córtex interno, *Pecluma ferruginea*. **C-E:** Cavidades de diversos tamaños en el córtex interno, **C:** *Campyloneurum amphostenon*, **D:** *P. ferruginea*, **E:** *Pecluma hartwegiana*. **F:** Prueba de cloruro férrico, en café depósitos de taninos de la banda circumendodermal (BC), *Pleopeltis thyssanolepis*. **G:** Prueba de yodo en cloruro de zinc, en azul engrosamientos de celulosa de la BC, *P. thyssanolepis*. **H:** BC en casquete, *C. amphostenon*. **I:** BC en forma de "U", *Niphidium crassifolium*. **J:** Detalle del haz vascular en región basal, *P. ferruginea*. **K:** Haz vascular con BC discontinua en región apical. *P. alfredii* var. *cupreolepis*. **L:** Haz vascular mayor en la región basal, *Campyloneurum costatum*. Abreviaturas= bc: banda circumendodermal; cav: cavidades; ce: córtex externo; en: endodermis; es: estoma; fl: floema; ga: granos de almidón; pe: periciclo; xi: xilema. Escalas= A, D, J, L: 100 µm; B, F-G: 50 µm; C, K: 150 µm; E, H-I: 40 µm.

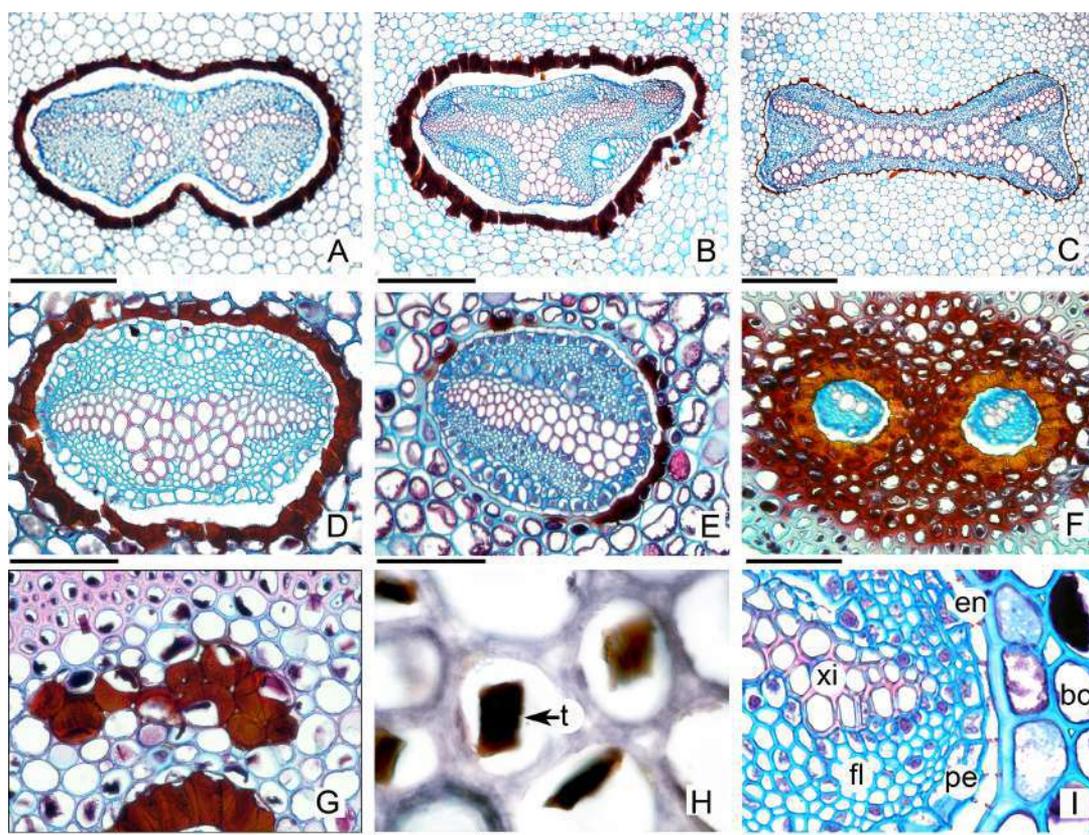


Fig. 9. Cortes transversales del pecíolo. **A:** Fusión de los haces en región apical, *Serpocaulon falcaria*. **B:** Haz vascular fusionado en región apical, *Polypodium puberulum*. **C:** Haz vascular en región apical, *Phlebodium decumanum*. **D:** Haz vascular fusionado en región apical, *Pleopeltis villagranii*. **E:** Haz vascular en región apical, *Pleopeltis thysanolepis*. **F:** CórTEX interno lignificado, *Microgramma lycopodioides*. **G:** Células de paredes engrosadas en el córtex interno, *Microgramma percussa*. **H:** Prueba de cloruro férrico, taninos en córtex interno, *Niphidium crassifolium*. **I:** Detalle del haz vascular en región basal, *Pleopeltis madrensis*. Abreviaturas= bc: banda circumendodermal; en: endodermis; fl: floema; pe: periciclo; t: taninos; xi: xilema. Escalas= A: 300 μ m; B: 350 μ m; C, F: 500 μ m; D-E: 150 μ m; G: 100 μ m; H: 50 μ m; I: 40 μ m.

Tabla 6. Tipos de fusión/división de los haces vasculares a lo largo del pecíolo observados en las especies estudiadas (de acuerdo con los patrones propuestos por Tejero-Díez *et al.* 2010). En este trabajo se añaden los tipos IIb y III d.

Tipo	Especie
IIIa	<i>Pleopeltis villagranii</i>
IIIc	<i>Pleopeltis madrensis</i>
Va	<i>Polypodium puberulum</i> ; <i>Campyloneurum costatum</i> ; <i>Serpocaulon dissimile</i>
Vb	<i>Pleopeltis thysanolepis</i>
VI	<i>Pecluma alfredii</i> var. <i>cupreolepis</i> ; <i>Pecluma ferruginea</i> ; <i>Pecluma hartwegiana</i>
VIII	<i>Campyloneurum amphostenon</i>
IX	<i>Phlebodium decumanum</i>
X	<i>Niphidium crassifolium</i>
XI	<i>Serpocaulon falcaria</i>
IIb	<i>Microgramma lycopodioides</i> ; <i>Pleopeltis astrolepis</i>
III d	<i>Microgramma percussa</i>

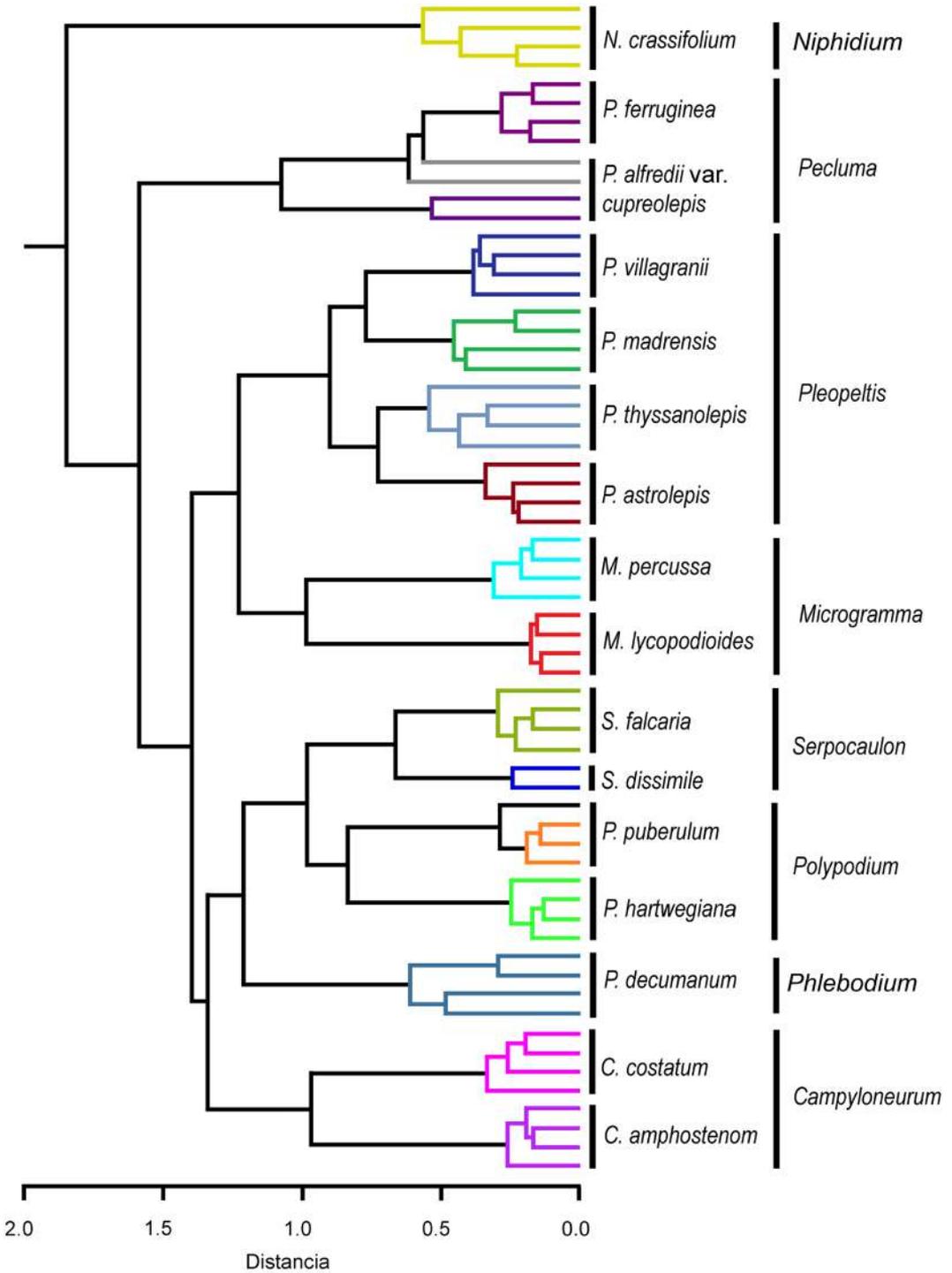


Fig. 10. Dendrograma obtenido a partir de los caracteres anatómicos de las tres regiones del peciolo.

Tabla 7. Eigenvectores, eigenvalores y porcentaje de variación en los tres primeros componentes principales. B: región basal, M: región media, A: región apical. *variables con valores altos de correlación con el componente.

Variable	CP 1	CP 2	CP 3
Al - M	0,103	0,075	-0,239*
Al - A	0,103	0,075	-0,239*
Ae - A	-0,103	-0,075	0,239*
PBC - B	-0,053	0,23*	0,093
FBC - B	-0,07	0,232*	-0,055
FBC - A	-0,089	0,217*	-0,06
DEL - B	-0,215*	-0,053	-0,073
DED - B	-0,214*	-0,063	-0,073
NHV - M	-0,213*	-0,01	-0,041
Eigen valor	16.611	12.682	10.361
Porcentaje de variación individual	24,07	18,38	15,02
Porcentaje acumulado	24,07	42,45	57,47

DISCUSIÓN

En trabajos previos se ha señalado que la variación en la estructura interna del pecíolo puede ser de utilidad en el estudio sistemático de los helechos (Ogura, 1972; Lin & De Vol, 1977; Davies, 1991; Hernández-Hernández *et al.*, 2012; Martínez & Vilte, 2012; Tan *et al.*, 2020), por lo que se examinan cada uno de los caracteres anatómicos considerados en este estudio.

En los helechos la forma del pecíolo en corte transversal se ve modificada por la presencia de surcos y alas, por lo que autores como Ummu-Hani *et al.* (2013) y Noraini *et al.* (2014), han descrito de manera independiente la superficie abaxial y la adaxial, señalando la utilidad de este carácter en la identificación de las especies de *Davallia* y *Blechnum* respectivamente, presentes en Malasia peninsular. Siguiendo este carácter se encontró que la forma del contorno permanece constante a lo largo del pecíolo en especies como *Pecuma hartwegiana* o *Pleopeltis astrolepis*, mientras que en otras el desarrollo de las alas la modifica, como puede verse en la Tabla 3. La comparación entre taxones mostró

semejanzas entre especies de distintos géneros (como *Microgramma lycopodioides* y *Pleopeltis astrolepis*), así como diferencias (*Microgramma lycopodioides* con *M. percussa*) y similitudes entre especies de un mismo género (*Pecuma alfredii* con *P. ferruginea*), por lo que para determinar la utilidad de esta característica en la circunscripción específica o genérica es necesario registrarla en un mayor número de taxones.

La presencia de pecíolos surcados es un carácter que distingue a *Polypodium sensu stricto* (Tejero-Díez *et al.*, 2010), sin embargo, no se observó la presencia de surco en *P. puberulum*, por lo que cabe hacer dos comentarios. El primero, que Lin & De Vol (1977) mencionan que en material fresco o preparados microscópicos los surcos pueden no ser conspicuos (pudiendo ser este el caso), y el segundo, que la especie en cuestión pertenece a lo que se define como grupo de *Polypodium dulce*, el cual de acuerdo con Assis *et al.* (2016), necesita ser estudiado taxonómicamente para determinar su relación con *Pecuma* u otro género de Polypodiaceae.

En lo que se refiere al indumento, Mickel & Smith (2004) mencionan que *Pecuma hartwegiana* tiene el pecíolo glabro mientras que Moran (1995) lo señala como piloso a glabrescente. En los cortes obtenidos en este trabajo se observó la presencia de pelos uniseriados a lo largo de todo el pecíolo. Las cuatro especies de *Pleopeltis* presentaron escamas peltadas, carácter que Smith & Tejero-Díez (2014) consideraron importante en la redefinición del género, mientras que la existencia de pelos glandulares en la porción basal de las escamas de *Microgramma percussa* no se había reportado anteriormente.

La presencia de nectarios en los pecíolos de *Campyloneurum amphostenon* y *C. costatum* señalada en este trabajo también se ha registrado en otras especies del género, como *C. aglaolepis* (Alston) de la Sota, *C. angustifolium* (Sw.) Fée, *C. angustipaletum* (Alston) M. Mey. ex Lellinger, *C. lorentzii* (Hieron.) Ching y *C. tucumanense* (Hieron.) Ching (Jaimez *et al.*, 2021). Asimismo, se han reportado nectarios en la superficie abaxial de la lámina, en la unión de las venas laterales principales con la vena media, en *C. phyllitidis* (L.) C. Presl, *C. repens* (Aubl.) C. Presl, *C. xalapense* Fée (Mickel & Beitel, 1988; León, 1993), *C. brevifolium* (Lodd. ex Link) Link y *C. sphenodes* (Kunze ex Klotzsch)

Fée (Mehltreter *et al.*, 2022). Se ha sugerido que la posible función de estas estructuras es promover la visita de hormigas mutualistas y otros artrópodos, con la finalidad de reducir la herbivoría durante el desarrollo de las hojas jóvenes (Mehltreter *et al.*, 2022). No obstante, algunos autores sugieren que la planta no recibe ningún beneficio de las hormigas (Tempel, 1983; Rashbrook *et al.*, 1992).

La mayoría de los helechos leptosporangiados poseen líneas de aireación de color claro en los costados del pecíolo, a las que se les da el nombre de aeróforos y consisten en interrupciones del esclerénquima del córtex externo, el cual es sustituido por parénquima con espacios intercelulares conspicuos. Generalmente en la superficie exterior de esta zona hay estomas por los que entra el aire que se difunde hacia los tejidos internos (Lin & De Vol, 1977; Davies, 1991; Vasco *et al.*, 2013; Moran, 2022). A pesar de ser frecuentes, la información sobre la presencia de aeróforos es escasa ya que muchas veces no se mencionan en la literatura botánica, y en el material de herbario son poco visibles o prácticamente invisibles (Moran, 2022), de ahí la importancia de registrarlos en trabajos anatómicos como este. Se ha señalado que los nectarios ubicados en las uniones raquis-costa o ligeramente desplazados hacia la superficie abaxial de algunas especies de *Campyloneurum* y *Serpocaulon*, pueden representar porciones modificadas de la línea aerófora (Moran, 2022). En este estudio se registró la presencia de nectarios y aeróforos en el pecíolo de *Campyloneurum* y sólo aeróforos en *Serpocaulon*.

Las especies de *Pleopeltis* presentaron en los ápices de las alas un conjunto de células de esclerénquima, que ya habían sido observadas por Hernández *et al.* (2012) en *Pleopeltis minima* (Bory) J. Prado & R. Y. Hirai, quienes mencionan que las alas junto con el córtex externo regulan la pérdida de agua al plegarse y expandirse durante la deshidratación y rehidratación de la planta, respectivamente.

El córtex externo constituye un tejido mecánico cuya función es dar soporte a la lámina y brindar resistencia a la flexión del pecíolo (Ogura, 1972; Mahley *et al.*, 2018). Mahley *et al.* (2018) señalan que parte de las propiedades mecánicas del pecíolo para el soporte de la hoja son conferidas por la composición celular del córtex externo, en donde suelen desarrollarse células con paredes engrosadas y lúmenes estrechos. Con base en lo anterior, los

cuatro tipos de córtex externo, propuestos en este trabajo, se ordenaron del menos esclerosado con células de paredes delgadas y lúmenes amplios, al más esclerosado con células de paredes gruesas y lúmenes casi obliterados, interpretándose los resultados de la siguiente manera: el **tipo 1**, se presenta en *Microgramma* cuyas hojas son pequeñas por lo que el pecíolo no requiere de gran rigidez para sostenerlas. También se observa en *Niphidium crassifolium* que, si bien tiene hojas grandes y erectas, presenta un diámetro del pecíolo y grosor del córtex externo mayores, rasgos que de acuerdo con Mahley *et al.* (2018) brindan mayor rigidez. Esto sumado a la presencia de un surco dorsal proporcionaría mayor resistencia a la flexión en el eje dorsiventral, el cual debe soportar las perturbaciones de caída de hojarasca o lluvia en los ambientes donde crece. El **tipo 2** está presente en los pecíolos de las especies de *Campyloneurum*, *Phlebodium*, *Polypodium* y *Serpocaulon* analizadas, que poseen en su mayoría hojas deflexas las cuales, por los movimientos que experimentan, tienen un mayor grado de estrés en la periferia del pecíolo donde se ubican las células que proporcionan mayor resistencia. El **tipo 3** está presente en *Pleopeltis*, cuyas plantas son tolerantes a la desecación por lo que un córtex con células más reforzadas le permitiría mantener su estructura a pesar de la disminución de turgencia durante el proceso de deshidratación. Además, la presencia de taninos impregnados en las paredes ayudaría a reducir la pérdida de agua (Esau, 1972). El **tipo 4** se observa sólo en *Pechuma alfredii* var. *cupreolepis* y *P. ferruginea*, cuyas plantas tienen hojas péndulas y tolerantes a la sequía, por lo que se infiere que el tener células con los lúmenes completamente obliterados proporcionaría mayor fuerza y rigidez al pecíolo. De igual manera, los taninos tendrían un papel en disminuir la pérdida de agua.

Los espacios intercelulares en el córtex interno están relacionados con la difusión del aire que entra a través de los estomas hacia el sistema vascular (Ogura, 1972; Davies, 1991), por lo que es posible que las cavidades observadas en algunas especies ayuden a dicha función.

Hernández-Hernández *et al.* (2012) estudiaron en detalle la banda circumendodermal e indicaron que los engrosamientos se pueden disponer en dos formas: en casquete, cuando se presentan sólo en las paredes periclinales internas, o en forma de “U” cuando los engrosamientos se extienden

hacia las paredes anticlinales, observándose ambas disposiciones en este trabajo.

La discontinuidad de la BC observada en las especies de *Pleopeltis*, así como su ausencia en *Pecluma alfredii* var. *cupreolepis* y *P. ferruginea*, también fue registrada por Hernández-Hernández *et al.* (2012) para *Pleopeltis crassinervata* T. Moore y *Pecluma plumula* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M. G. Price, respectivamente, interpretándola como una pérdida secundaria debido a la dispensabilidad biomecánica de la BC por la presencia de un esclerénquima más rígido. En este estudio se observa que cuando la BC es discontinua (como en *Pleopeltis*) se presenta un córtex externo tipo 3, y cuando la misma está ausente, uno tipo 4 (como en las dos especies de *Pecluma*), ambos tipos caracterizados por presentar un esclerénquima bien desarrollado.

El patrón de distribución del sistema vascular observado en todas las especies corresponde con lo establecido para la familia Polypodiaceae en distintos trabajos (Ogura, 1972; Schuettpelz & Pryer, 2008; PPG I, 2016).

En cuanto los tipos de configuración presentes en los haces vasculares propuestos por Tejero-Díez *et al.* (2010), en este trabajo se observó que ninguna de las especies de un mismo género presentó el mismo patrón, con excepción de los representantes de *Pecluma*, a los que se les asignó el tipo VI, que según los autores citados está relacionado con el pecíolo terete y donde ubicaron a *Pecluma dispersa* (A.M. Evans) M. G. Price. Sin embargo, las especies consideradas en este estudio presentaron menor cantidad de haces menores.

El tipo XI, descrito por Tejero-Díez *et al.* (2010) para *Serpocaulon falcaria*, se caracteriza porque en la porción basal del pecíolo hay dos haces mayores, que se fusionan en la parte media y posteriormente se separan en la región apical, sin embargo, esto no se observó en los individuos muestreados en este trabajo por lo que sería necesario determinar que sucede en ejemplares que crecen en otros sitios, así como obtener la información de más especies del género para determinar la constancia de esta característica.

Por su parte, Smith & Tejero-Díez (2014) indicaron que el patrón V de Tejero-Díez *et al.* (2010) es uno de los caracteres que ayudan al establecimiento de límites en *Pleopeltis* o de subgrupos dentro del género, sin embargo *P. thyssanolepis* fue la única especie que mostró dicho

patrón, mientras que *P. madrensis* se ubicó en el tipo IIIc, el mismo que Lagoria *et al.* (2018) reconocen para *Pleopeltis macrocarpa* (Bory ex Willd.) Kaulf., de modo que habría que explorar el comportamiento de este carácter en otras especies de *Pleopeltis* y *Polypodium*, con el fin de determinar su utilidad en la separación de ambos taxones.

Smith & Tejero-Díez (2014) transfirieron de *Polypodium* a *Pleopeltis* a las especies *P. madrensis*, *P. thyssanolepis* y *P. villagranii*. En el dendrograma obtenido en este trabajo, las tres especies se agruparon junto con *Pleopeltis astrolepis*, ya que comparten con ella, además de la presencia de escamas peltadas, la epidermis no esclerosada, la presencia de alas, el córtex externo tipo 3 y la BC discontinua, por lo que se puede ver la utilidad de la anatomía del pecíolo en la redefinición de los géneros de Polypodioideae.

En la filogenia molecular de *Pecluma* realizada por Assis *et al.* (2016), los autores transfirieron a este género cuatro especies del grupo de *Polypodium dulce* Poir (*sensu* Moran, 1995), una de ellas *Pecluma hartwegiana*. En el dendrograma del presente trabajo, esta especie se agrupó con *Polypodium puberulum*, por la presencia de aeróforos, la epidermis esclerosada, el córtex externo tipo 2 y las características de la BC, sin embargo, también comparte caracteres con las especies de *Pecluma* como el contorno terete del pecíolo, la presencia de pelos y el número y lugar de fusión de los haces vasculares. Debido a que *P. hartwegiana* presentó caracteres anatómicos de ambos géneros, se revisaron también las características morfológicas de la especie, observando que comparte con *Polypodium* la presencia de un rizoma rastrero largo, hojas lanceoladas, pinnas deltadas y no enroscadas cuando deshidratadas, lo que indica la necesidad de continuar con estudios moleculares y morfológicos que incluyan al resto de las especies del grupo de *P. dulce*, con el fin de circunscribir claramente a los representantes de ambos géneros.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en otros trabajos sobre anatomía del pecíolo, y reafirman la utilidad que puede tener esta fuente de información en la taxonomía de los helechos. En los géneros y las especies estudiadas se encontraron diferencias anatómicas que

permitieron delimitarlas, sin embargo, es necesario registrar las características de un mayor número de taxones para determinar si esto se mantiene o cambia. Los caracteres más importantes fueron el diámetro del pecíolo, las características de la banda circumdodermal, el número de haces vasculares, así como la presencia de aeróforos y/o alas.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

AMR, JCR y SLE diseñaron el proyecto de investigación, SLE consultó los herbarios y procesó el material, realizó la investigación, así como el análisis e interpretación de datos; AMR, JCR y SLE recolectaron el material de campo. Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito. SLE realizó los dibujos de los contornos y junto con AMR elaboraron las láminas de figuras.

AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT por la beca de posgrado (636880) otorgada al primer autor, a Amparo B. Cerón y Rubén Agustín Camacho por la recolección de algunos ejemplares de helechos y a los revisores anónimos por sus comentarios para enriquecer el contenido del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- ASSIS, F.C., T. E. ALMEIDA, S. J. RUSSELL, H. SCHNEIDER & A. SALINO. 2016. Molecular phylogeny and recircumscription of the fern genus *Pecluma* (Polypodiaceae-Polypodiopsida). *Phytotaxa* 247: 235-246. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.247.4.1>
- CURTIS, P. J. 1986. *Microtecnica vegetal*. Trillas, Ciudad de México.
- DAVIES, K. L. 1991. A brief comparative survey of aerophore structure within the Filicopsida. *Bot. J. Linn. Soc.* 107: 115-137. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1991.tb00220.x>
- DE LA SOTA, E. R. 1966. Revisión de las especies argentinas del grupo *Polypodium squamatum* L. *Rev. Mus. La Plata* 10: 69-186.
- DÍAZ-CASTELAZO, C., V. RICO-GRAY, F. ORTEGA & G. ANGELESG. 2005. Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico. *Ann. Bot.* 96: 1175-1189. <https://doi.org/10.1093/aob/mci270>
- ESAU, K. 1972. *Anatomía vegetal*. Ediciones Omega, Barcelona.
- FERRARI, F. B. 2009. *Anatomia foliar de espécies de Aspleniaceae e Polypodiaceae (Monilófitas) ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, MG, Brasil*. Tesis de Maestría. Universidad Federal de Viçosa, Brasil.
- HERNÁNDEZ, M. A., R. O. VARELA, L. C. TERÁN, M. MATA. 2012. Preferencia de hospedero, orientación y rasgos morfológicos-anatómicos de *Pleopeltis minima* (Polypodiaceae) en un ambiente urbano. *Lilloa* 49: 105-117.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, V., T. TERRAZAS, K. MEHLTRETER & G. ÁNGELES. 2012. Studies of petiolar anatomy in ferns: structural diversity and systematic significance of the circumdodermal band. *Bot. J. Linn. Soc.* 169: 596-610. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01236.x>
- JAIMEZ, D. G., B. LEÓN & O. G. MARTÍNEZ. 2021. Comparative anatomy of five species of *Campyloneurum* (Polypodiaceae) from South America. *Flora* 282: 151881. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151881>
- JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, Nueva York.
- KRAUS, J.E. & M. ARDUIN. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR, Río de Janeiro.
- LAGORIA, M. A., G. AVILA, D. A. NEIRA, A. M. RODRÍGUEZ, N. F. RÍOS, J. PRADO & M. A. HERNÁNDEZ. 2018. Morphoanatomical and histochemical characteristics of the epiphytic fern *Pleopeltis macrocarpa* (Polypodiaceae). *Braz. J. Bot.* 41: 739-750. <https://doi.org/10.1007/s40415-018-0474-8>
- LEÓN, B. 1993. *A taxonomic revision of the fern genus Campyloneurum*. Tesis Doctoral. Aarhus University, Dinamarca.
- LIN, B. L. & C. E. DE VOL. 1977. The use of stipe characters in fern taxonomy I. *Taiwania* 22: 91-99. <https://doi.org/10.6165/tai.1977.22.91>
- LIN B. L. & C. E. DE VOL. 1978. The use of stipe characters in fern taxonomy II. *Taiwania* 23: 77-95. <https://doi.org/10.6165/tai.1978.23.77>
- MAHLEY, J. N., J. PITTERMANN, N. ROWE, A. BAER ... & J. BECK. 2018. Geometry, allometry and biomechanics of fern leaf petioles: their significance

- for the evolution of functional and ecological diversity within the Pteridaceae. *Frontiers Pl. Sci.* 9: 197. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00197>
- MARTÍNEZ, O. G. & I. VILTE. 2012. The structure of petioles in *Pteris* (Pteridaceae). *Amer. Fern J.* 102: 1-11. <https://doi.org/10.1640/0002-8444-102.1.1>
- MEHLTRETER, K, R. TENHAKEN & S. JANSEN. 2022. Nectaries in ferns: their taxonomic distribution, structure, function, and sugar composition. *Amer. J. Bot.* 109: 46-57. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1781>
- MICKEL, J. T. & J. M. BEITEL. 1988. Pteridophyte Flora of Oaxaca, Mexico. *Mem. New York Bot. Gard.* 46: 1-568.
- MICKEL, J. T., A. R. SMITH. 2004. The pteridophytes of Mexico. *Mem. New York Bot. Gard.* 88: 1-1024.
- MONDAL, S. & S. MOKTAN. 2023. Implications of stipe and midrib morpho-anatomy on the taxonomy of Polypodiaceous ferns. *Phytotaxa* 613: 213-233. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.613.3.2>
- MORAN, R. C. 1995. Polypodiaceae. En: DAVIDSE, G., M. SOUZA & S. KNAPP (eds.) *Flora Mesoamericana. vol. 1. Psilotaceae a Salviniaceae*, pp. 333-366. Universidad Autónoma de México, Ciudad de México.
- MORAN, R. C. 2022. Remarks on aerophores and the relationship between sterome and stomata in ferns. *Brittonia* 74: 123-147. <https://doi.org/10.1007/s12228-022-09705-z>
- NORAINI, T., A. J. AMIRUL-AIMAN, R. JAMAN, A. R. NOR-FAIRUZ ... & A. R. RUZI. 2014. Systematic significance of stipe anatomy in peninsular Malaysian *Blechnum* L. (Blechnaceae) species. *Malaysian Appl. Biol.* 43: 119-128.
- OGURA, Y. 1972. *Comparative anatomy of the vegetative organs of the Pteridophytes*. Handbuch der Pflanzenanatomie. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- PALACIOS-RIOS, M., J. M. G. Y. GALAN, C. PRADA & V. RICO-GRAY. 2019. Structure of the petioles and costae of Mexican and Central American species of *Pteris* (Polypodiopsida, Pteridaceae). *Phytotaxa* 401: 101-106. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.401.2.2>
- PEÑA, E. & H. SARALEGUI. 1982. *Técnicas de Anatomía Vegetal*. Universidad de La Habana. La Habana.
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *J. Syst. Evol.* 54: 563-603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- RASHBROOK, V. K., S. G. COMPTON & J. H. LAWTON. 1992. Ant-herbivore interactions: reasons for the absence of benefits to a fern with foliar nectaries. *Ecology* 73: 2167-2174. <https://doi.org/10.2307/1941464>
- RESMI, S, V. P. THOMAS & V. K. SREENIVAS. 2016. Stipe anatomical studies on selected Pteridophytes of South India. *Acta Bot. Hung.* 58: 167-176. <https://doi.org/10.1556/034.58.2016.1-2.7>
- RZEDOWSKI J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa, Ciudad de México.
- SASS, J. E. 1958. *Botanical microtechnique*. The Iowa State University Press, Ames.
- SCHUETTPELZ, E. & K. M. PRYER. 2008. Fern phylogeny. En: RANKER, T.M. & C. H. HAUFLER (eds.) *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes*. pp. 395-416. Cambridge University Press, Nueva York.
- SMITH, A. R. & J. D. TEJERO-DÍEZ. 2014. *Pleopeltis* (Polypodiaceae), a redefinition of the genus and nomenclatural novelties. *Bot. Sci.* 92: 43-58. <https://doi.org/10.17129/botsci.29>
- SMITH, A. R., H. P. KREIER, C. H. HAUFLER, A. RANKER & H. SCHNEIDER. 2006. *Serpocaulon* (Polypodiaceae), a new genus segregated from *Polypodium*. *Taxon* 55: 919-930. <https://doi.org/10.2307/25065686>
- TAN, J. M. P., M. C. BANATICLA-HILARIO, P. MALABRIGO, M. D. ANGELES & J. R. I. E. BUOT. 2020. Anatomical examination of the petiole of eupolypods I (Polypodiales). *Biodiversitas* 21: 1767-1777. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210501>
- TEJERO-DÍEZ, J. D., S. AGUILAR-RODRÍGUEZ, T. TERRAZAS & L. PACHECO. 2010. Arquitectura y anatomía foliar del complejo *Polypodium plesiosorum sensu Moran* (Polypodiaceae). *Revista de Biol. Trop.* 58: 955-976. <https://doi.org/10.15517/RBT.V58I2.5257>
- TEMPEL, A. S. 1983. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) and nectar-feeding ants: a nonmutualistic interaction. *Ecology* 64: 1411-1422. <https://doi.org/10.2307/1937495>
- UMMU-HANI, B., T. NORAINI, H. MAIDEEN, A. DAMANHURI ... & A. R. RUZI. 2013. Taxonomic value of the stipe anatomy in *Davallia* (Davalliaceae) in Peninsular Malaysia. *Malayan Nat. J.* 65: 130-144.
- VASCO, A., R. C. MORAN & B. A. AMBROSE. 2013. The evolution, morphology, and development of fern leaves. *Frontiers Pl. Sci.* 4: 345. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00345>

- WEBER, M. G. & K. H. KEELER. 2012. The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. *Ann. Bot.* 111: 1251-1261. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs225>
- WEI, R. & X. C. ZHANG. 2022. A revised subfamilial classification of Polypodiaceae based on plastome, nuclear ribosomal, and morphological evidence. *Taxon* 71: 288-306. <https://doi.org/10.1002/tax.12658>
- ZLOTNIK, E. A. 1987. *Anatomía comparada de dos formas de crecimiento de la especie Polypodium aureum L. (Filicales, Pterophyta)*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- ZLOTNIK, E. A. 1991. *Anatomía de Polypodiaceae s. str.* Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.



SPORE VIABILITY OF FERN SPECIES OF THE GENERA *AMAUROPelta*, *Blechnum*, AND *Physematium* FROM CENTRAL ARGENTINA AFTER LOW TEMPERATURE STORAGE

VIABILIDAD DE ESPORAS DE HELECHOS DE LOS GÉNEROS *AMAUROPelta*, *Blechnum* Y *Physematium* DEL CENTRO DE ARGENTINA LUEGO DEL ALMACENAMIENTO A BAJA TEMPERATURA

M. Luz Martinenco¹, Marcelo D. Arana^{2,3} & M. Luján Luna^{1*}

1. Laboratorio de Anatomía Comparada, Propagación y Conservación de Embriofitas, Facultad de Ciencias Naturales y Naturales, Instituto ICBIA (UNRC-CONICET), Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

2. Grupo GIVE, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Instituto ICBIA (UNRC-CONICET), Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina

3. Instituto Criptogámico, Área Botánica, Fundación Miguel Lillo, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

*lujanluna@fcnym.unlp.edu.ar

Citar este artículo

MARTINENCO, M. L., M. D. ARANA & M. L. LUNA. 2024. Spore viability of fern species of the genera *Amauropelta*, *Blechnum* and *Physematium* from central Argentina after low temperature storage. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 299-309.

 DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v59.n3.44658>

Recibido: 4 Abr 2024
Aceptado: 7 Jul 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editor: Gonzalo J. Márquez 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: Ferns are sensitive to environmental changes, inhabiting ecosystems susceptible to degradation. Spore banks and *in vitro* spore culture are useful tools employed in their conservation. The objective was to test the ability of the spores to germinate after being stored in a freezer and to develop gametophytes and sporophytes, in native fern species of genera *Amauropelta*, *Blechnum* and *Physematium*.

M&M: Spores of *A. argentina*, *B. auriculatum* and *P. montevidensis* were stored at -20 °C in dry conditions for 6 and 12 months. They were sown *in vitro* in Dyer liquid medium and incubated in a growth chamber. The means of germination percentages were calculated and a one-way Student's t-test was employed. Gametophyte and sporophyte development was registered under light and stereoscopic microscopes.

Results: Depending on the species, statistical differences were recorded in germination percentages (viability) between both storage periods. The spores of *A. argentina* kept in freezer for 12 months completely lost viability. In *B. auriculatum*, viability decreased over time, and in *P. montevidensis* it remained constant. Gametophytes and sporophytes developed in all cultures; except in *A. argentina* spores, with 12 months in freezer.

Conclusions: The viability of the spores under dry storage at low temperature could be conditioned by the ecological requirements of the species. Protocols used for spore storage and culture allowed obtaining gametophytes and sporophytes in trials.

KEY WORDS

Amauropelta, *Blechnum*, *ex-situ* conservation, fern, freezing, *Physematium*, spore longevity.

RESUMEN

Introducción y objetivos: Los helechos son sensibles a cambios ambientales, habitando en ecosistemas susceptibles a degradación. Los bancos de esporas y el cultivo *in vitro* son herramientas útiles para su conservación. El objetivo fue probar la capacidad de las esporas para germinar luego del almacenamiento en freezer y de desarrollar gametofitos y esporofitos, en especies de helechos nativos de los géneros *Amauropelta*, *Blechnum* y *Physematium*.

M&M: Esporas de *A. argentina*, *B. auriculatum* y *P. montevidensis* se almacenaron deshidratadas a -20 °C durante 6 y 12 meses. Se sembraron *in vitro* en medio Dyer líquido y se incubaron en estufa. Se calcularon las medias de los porcentajes de germinación y se empleó una prueba t Student unidireccional. El desarrollo de gametofitos y esporofitos fue registrado con microscopio óptico y lupa.

Resultados: Se registraron diferencias estadísticas en los porcentajes de germinación (viabilidad) entre ambos períodos de almacenamiento. Las esporas de *A. argentina* mantenidas durante 12 meses en freezer perdieron completamente la viabilidad. En *B. auriculatum*, la viabilidad disminuyó con el tiempo y en *P. montevidensis* que permaneció constante. Se desarrollaron gametofitos y esporofitos en todos los cultivos; excepto en *A. argentina* almacenadas 12 meses en freezer.

Conclusiones: La viabilidad de esporas almacenadas deshidratadas a baja temperatura podría estar condicionada por los requerimientos ecológicos de las especies. Los protocolos utilizados para el almacenamiento y cultivo de esporas permitieron obtener gametofitos y esporofitos en todos los ensayos.

PALABRAS CLAVE

Amauropelta, *Blechnum*, congelación, conservación *ex situ*, helecho, longevidad de espора, *Physematium*.

INTRODUCTION

Ferns are one of the oldest lineages of vascular plants, highly sensitive to environmental changes. They usually inhabit ecosystems susceptible to degradation, so their protection and conservation contribute to ensuring the maintenance of these ecosystems and the biodiversity therein (Ballesteros *et al.*, 2006; Arcand & Ranker, 2008; Mehltreter, 2010). Ferns have diverse ecological roles and many species are of economic interest as ornamental, food or medicinal plants (Mannan *et al.*, 2008; Lee & Shin, 2010; Sharpe *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2012; Goswami *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2019). Furthermore, various fern taxa are considered as indicators of environment disturbance, climate changes and pollution (Della & Falkenberg, 2019).

Procedures for biodiversity plant conservation can be *in situ* (protection of natural habitats), or *ex situ* (botanic gardens, germplasm banks, *in vitro* culture), both not mutually exclusive but complementary (Dyer, 1994; Ibars & Estrelles, 2012; Breman *et al.*, 2021). Fern spore banks (analogous to seed banks for angiosperms) are an *ex-situ* conservation tool that allows storing large quantities of germplasm with high genetic variation in a small space (Dyer, 1994; Pence, 2008; Ibars & Estrelles, 2012; Ballesteros & Pence, 2018). Ballesteros *et al.* (2006) claimed that the spores of ferns that inhabit threatened ecosystems should be included in germplasm banks for experimental purposes and for long-term biodiversity conservation.

The sporophytes of most ferns produce large quantities of spores that are readily available every year, and their viability plays an important role for the successful establishment of individuals and populations in new habitats (Dyer, 1994; Sheffield, 1996). Due to their desiccation tolerance, spores can be stored for long periods of time at low temperatures maintaining their viability (Dyer, 1979; Ballesteros, 2010). The reduction in spore viability can be measured by the decrease in germination percentage over time (Gabriel y Galán & Prada, 2010).

Various works address the analysis of the optimal conditions to preserve the viability of the spores over time, using variables as wet or dry storage (i.e. spores stored in capsules with mineral agar vs. kept in Eppendorf tubes), or different temperatures

(most common 20 °C, 5 °C, -20 °C or -196 °C in liquid nitrogen) (Pence, 2002, 2008; Quintanilla *et al.*, 2002; Aragón & Pangua, 2004; Ballesteros *et al.*, 2006, 2012; Gabriel y Galán & Prada, 2011; Mikula *et al.*, 2009, 2015; Vargas & Droste, 2014; Tomiczak *et al.*, 2023). Usually, the viability of fern spores is retained when they are stored in dry and cold conditions (Pence, 2008; Gabriel y Galán & Prada, 2010).

As part of a project that aims to investigate the optimal methods for *ex situ* conservation of ferns that inhabit Argentina, we began our studies in the central region of this country, one of the four centres of fern diversity in Southern Cone (Arana *et al.*, 2013). In this area, fern populations are concentrated in the mountain systems (called “Sierras Pampeanas centrales”), which act as islands immersed in pampean plains (Arana & Ponce, 2004; Oggero & Arana, 2012; Arana *et al.*, 2021). Despite habitat heterogeneity, the biota inhabiting isolated mountain systems is less likely to survive catastrophic events (Taylor & Kumar, 2016). In central Argentina, the mountain systems are frequently disturbed by fires which cause strong impacts on species composition, vegetation structure, and biogeochemical and hydrological cycles (Whelan, 1995; Morgan *et al.*, 2001; Argarañaz *et al.*, 2020).

The objective of the present work was to test the ability of the spores to germinate after being stored in a freezer and to develop gametophytes and sporophytes, in native fern species of genera *Amauropelta*, *Blechnum*, and *Physematium* from central Argentina with different ecological requirements.

MATERIALS AND METHODS

Three taxa were studied: *Amauropelta argentina* (Hieron.) Salino & T.E. Almeida (Thelypteridaceae), *Blechnum auriculatum* Cav. (Blechnaceae), and *Physematium montevidensis* (Spreng.) Shmakov (Woodsiaceae). Materials were collected in four localities of the Chaco serrano district, Chaco biogeographic province, Neotropical region: Las Jarillas (31° 32' 03.16'' S, 64° 32' 14.98'' W), Atos Pampa (31° 57' 49.34'' S, 64° 40' 13.19'' W), Las Albahacas (32° 53' 59.02'' S, 64° 50' 17.97'' W), and Achiras (33° 09' 07.38'' S, 64° 59' 32.78'' W).

The characteristic vegetation of the district is the xerophytic forest alternating with shrublands. The analysed taxa occur in different microhabitats: *A. argentina* is a hygrophilous species that lives associated with water courses, usually along stream banks, whereas *B. auriculatum* and *P. montevidensis* grow in xeric microhabitats of deep cracks and rock crevices (Fig. 1A-D). Voucher specimens were deposited in the herbarium RCVC of the National University of Río Cuarto, Argentina (Thiers, 2024).

Spore storage conditions

Portions of fronds with mature closed sporangia were taken from ten individuals per species and transported to the laboratory in paper envelopes. Materials were air-dried at room temperature (~24 °C) and ambient RH until spore release. Spores were filtered using a mesh with pores 88 µm in diameter, in order to eliminate remnants of indusia, scales, sporangia or leaf material. The spores were kept for 2 months in a refrigerator (4 °C) before sowing. To test the viability of the spores before their storage at low temperature, samples were sown *in vitro* following the methodology described below. The spores were considered viable when they germinated (rupture of the spore wall and emergence of the first rhizoid).

Once the viability of the fresh spores was verified, subsamples were placed in Eppendorf tubes, labelled and stored in a freezer at -20 °C. The viability of the spores was evaluated at two storage times: 6 and 12 months. Six replicates for each storage period per species were employed. The final spore viability was calculated according to Quintanilla *et al.*, (2002) and Aragon & Pangua (2004), by analysing the germination percentage after 30 days from spore sown (no further germination was observed after). Germination percentage was calculated from a random count of 100 spores from each dish (following Aragón & Pangua, 2004).

In vitro spore culture and gametophyte development

The spores were cultured in previously autoclaved (120 °C for 20 minutes) Petri dishes 9 cm in diameter, containing Dyer liquid medium (Dyer, 1979). Spores were not disinfected before sowing. The capsules were sealed with Parafilm and placed in a growth chamber with a photoperiod of 12 hours, under white fluorescent illumination

28 µmol m⁻² s⁻¹, at 20 ± 2 °C. The cultures were examined every 2-3 days under a stereoscopic microscope Nikon SMZ 1000.

The different stages of gametophyte development were photographed employing a Nikon E200 light microscope (LM). For this, samples were placed on microscopic slides and mounted in water. When the gametophytes reached the cordiform phase they were transferred to Petri dishes containing previously autoclaved soil extracted from the natural habitats. Cultures were kept in the growth chamber until sporophyte emergence.

Statistical analysis

First, the means of germination percentages were calculated in the three fern species at the two cold storage conditions and then, a one-way Student's t-test was employed to determine if the differences in percentages were statistically significant at the distinct storage times. A Student's test calculator (InfoStat) was used to calculate the T-value, which can be employed to compare the variability of data and to determine whether means were significantly different or not. Last, p-values were calculated using the difference in mean at the 5% significance level, for our data from 6 and 12 months of storage in each species.

RESULTS

Fresh spores germinated quickly, between 5 days (*Blechnum auriculatum*) and 7-9 days after sowing (*Amauropelta argentina* and *Physematum montevidensis*) (Table 1). In the frozen materials, a variation in germination time was recorded. The spores of *B. auriculatum* stored for 12 months in freezer took longer to germinate than those kept for 6 months, whereas in *P. montevidensis* germination occurred in both trials 15 days after sown. The spores of *A. argentina* completely lost viability after 12 months of storage at -20 °C.

There were significant differences in germination percentages between the two storage periods in freezer depending on the species analysed (Table 2). *B. auriculatum* showed a greater spore germination percentage after a 6-months of storage in comparison with *A. argentina* and *P. montevidensis*. The storage at low temperature during 12 months damaged or reduced the viability



Fig. 1. Sampling area and individuals in their habitats. **A:** Typical landscape of the Chaco serrano district. **B:** individual of *Amauropelta argentina* growing on a stream bank. **C:** population of *Blechnum auriculatum* growing among rocks. **D:** individuals of *Physematium montevidensis* with rupicolous habit. Scales= B-D: 20 cm.

of the spores (expressed as germination percentage) in *A. argentina* and *B. auriculatum*, meanwhile storage period did not affect the germination percentage in *P. montevidensis*.

Gametophyte and sporophyte development was registered in all cultures, except for those corresponding to the spores of *A. argentina* kept for 12 months in the freezer. The morphological characteristics of the gametophytes, their sexual expression and the emergence of the sporophytes are described in Table 1 and Figs. 2-4. The developmental characteristics of gametophytes and sporophytes for each species were similar in all trials (i.e. fresh spores and under different storage periods). Briefly, in *A. argentina* the filamentous gametophyte phase consisted of short filaments

2-3 cells long (Fig. 2A-B). During the laminar phase, trichomes developed first on the margins and then on the gametophyte surface (Fig. 2C-F). Both smaller elongated and larger symmetrical gametophytes were recorded in the cordiform phase (Fig. 2G-J). Smaller ones were unisexual male (Fig. 2H-I), whereas larger gametophytes were bisexual (Fig. 2J-K). In some instances, branched male gametophytes were observed (Fig. 2L). Sporophytes developed in trials where fresh spores and those stored in a freezer for 6 months were used (Fig. 2M-N). In *B. auriculatum*, the filaments were 3-5 cells long and some of them developed a terminal trichome (Fig. 3A-B). The bi-dimensional growth phase showed elongated gametophytes that bore trichomes on the margins and on the prothallus

Table 1. Spore germination, gametophyte and sporophyte development in *Amauropelta argentina*, *Blechnum auriculatum*, and *Physematum montevidensis* laboratory trials. References= GCP: gametophyte cordiform phase; GFP: gametophyte filamentous phase; GLP: gametophyte laminar phase; SG: spore germination.

Species	Fresh spores	Spores 6 months storage	Spores 12 months storage
<i>Amauropelta argentina</i>	SG: 8-9 days from sown. TG: 60 %	SG: 10 days from sown.	Spores did not germinate
	GFP: 2-5 days from SG. Filaments 2-3 cells long.	GFP: 4-6 days from SG. Filaments 2-3 cells long.	
	GLP: 5 days from SG. Trichomes on the margins.	GLP: 6 days from SG. Trichomes on the margins.	
	GCP: 24 days from SG. Trichomes on the margins and the prothallus surface.	GCP: 20 days from SG. Trichomes on the margins and the prothallus surface.	
	Antheridia: 50 days from SG.	Antheridia: 60 days from SG.	
	Archegonia: 60 days from SG.	Archegonia: 67 days from SG.	
	Gametophyte sexuality: bisexual and male unisexual.	Gametophyte sexuality: bisexual and male unisexual.	
	Sporophyte: 90-100 days from SG.	Sporophyte: 120 days from SG.	
<i>Blechnum auriculatum</i>	SG: 5 days from sown. TG: 70%	SG: 6 days from sown.	SG: 14 days from sown.
	GFP: 2-6 days from SG. Filaments 3-5 cells long, some with terminal trichome.	GFP: 2-7 days from SG. Filaments 3-5 cells long, some with terminal trichome.	GFP: 2-7 days from SG. Filaments 3-5 cells long, some with terminal trichome.
	GLP: 7 days from SG. Trichomes on the margins.	GLP: 7 days from SG. Trichomes on the margins.	GLP: 7 days from SG. Trichomes on the margins.
	GCP: 18 days from SG. Trichomes on the margins and the prothallus surface.	GCP: 17 days from SG. Trichomes on the margins and the prothallus surface.	GCP: 18 days from SG. Trichomes on the margins and the prothallus surface.
	Antheridia: 40 days from SG.	Antheridia: 75 days from SG.	Antheridia: 120 days from SG.
	Archegonia: 48 days from SG.	Archegonia: 78 days from SG.	Archegonia: 140 days from SG.
	Gametophyte sexuality: bisexual and male unisexual.	Gametophyte sexuality: bisexual and male unisexual.	Gametophyte sexuality: bisexual and male unisexual.
	Sporophyte: 60 days from SG.	Sporophyte: 90 days from SG.	Sporophyte: 210 days from SG.
<i>Physematum montevidensis</i>	SG: 6-8 days from sown. TG: 90%	SG: 15-26 days from sown.	SG: 15-30 days from sown.
	GFP: 2-4 days from SG. Filaments 3-5 cells long.	GFP: 2-5 days from SG. Filaments 3-5 cells long.	GFP: 2-7 days from SG. Filaments 3-5 cells long.
	GLP: 10 days from SG. Trichomes on the margins.	GLP: 10 days from SG. Trichomes on the margins.	GLP: 8 days from SG. Trichomes on the margins.
	GCP: 25 days from SG. Trichomes on the margins and the prothallus surface.	GCP: 30 days from SG. Trichomes on the margins and the prothallus surface.	GCP: 30 days from SG. Trichomes on the margins and the prothallus surface.
	Antheridia: 25 days from SG.	Antheridia: 43 days from SG.	Antheridia: 35 days from SG.
	Archegonia: 35 days from SG.	Archegonia: 49 days from SG.	Archegonia: 38 days from SG.
	Gametophyte sexuality: bisexual and male unisexual.	Gametophyte sexuality: bisexual and male unisexual.	Gametophyte sexuality: bisexual and male unisexual.
	Sporophyte: 52 days from SG.	Sporophyte: 60 days from SG.	Sporophyte: 65 days from SG.

Table 2. Significance of storage time on spore germination percentage using Student's t-test. References= n: number of capsules. In each one, 100 spores were counted. Percentage germination (mean±standar error). T: t-valor. **: p>0,05.

Species	Source variation	n	Storage time of 6 months	Storage time of 12 months	T	p-valor
<i>Amauropelta argentina</i>	% of germination	6	30±7	0	10,39	0,000
<i>Blechnum auriculatum</i>	% of germination	6	72±3	30±3	26,37	0,000
<i>Physematium montevidensis</i>	% of germination	6	40±7	40±7	0,32	0,7537**

surface (Fig. 3C-E). The cordiform gametophytes were mostly elongated throughout their development (Fig. 3F-I). Both unisexual male (Fig. 3G-H) and bisexual gametophytes were recorded, the latter with a wide notch behind which the gametangia differentiated (Fig. 3I-K). Sporophytes developed in all cultures using fresh spores as well as those stored in freezer (Fig. 3L-N). The filamentous phase of *P. montevidensis* gametophytes consisted of filaments 4-5 cells long, with or without a terminal trichome (Fig. 4A). During the laminar phase, more trichomes developed on the margins and on the gametophyte surface (Fig. 4B-C). As occurred in the other analysed species, a sexual dimorphism was observed being the male gametophytes smaller in size and cordiform elongated, whereas bisexual ones were larger and symmetrical cordiform (Fig. 4D-F). Sporophytes developed in all cultures (Fig. 4G).

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The spores of *Blechnum auriculatum* and *Physematium montevidensis* maintained their viability for up to 12 months when they were stored in the freezer. Both fern species completed the life cycle in laboratory conditions and sporophytes developed in all essays (after 6 and 12 months of storage). Quintanilla *et al.* (2002) analysed spore germination in five threatened ferns after different storage conditions, and stated that dry storage at -20 °C or 5 °C is an effective technique to maintain spore viability, requiring low preparation time and storage space. Aragón & Pangua (2004) also found dry storage at -20 °C fairly effective to maintain spore viability in rupicolous taxa of *Asplenium*. These authors reported a decrease in the percentage

of viable spores after 12 months of storage, as occurred in our cultures of *B. auriculatum*. In the case of *P. montevidensis*, this percentage remained constant over storage time.

By other hand, the spores of the hygrophilous species *A. argentina* completely lost viability when they remained 12 months stored in the freezer. Our results agree in general with those of Quintanilla *et al.* (2002), who found in other hygrophilous ferns that dry storage killed the spores after 6 months at -20 °C. According to these authors, hygrophilous species require high levels of soil moisture and relative humidity, thus wet storage seems more appropriate for them. In our study, the spores of *A. argentina* remained viable for up to 6 months of dry storage in the freezer, and gametophytes and sporophytes developed in these cultures. This indicates that the spores of *A. argentina* resist desiccation to a certain period of time. Ballesteros *et al.* (2012) also observed in some fern taxa, that shortest lived spores belonged to species from riparian or shaded forests of the Iberian Peninsula. As Aragón & Pangua (2004) suggested for other ferns, the ecological requirements of this species seem to have influenced to certain extent spore viability.

Various studies have shown the beneficial effects of preserving spores or tissues in liquid nitrogen, in particular to preserve endangered fern species (Mikula *et al.*, 2009; Ballesteros, 2012; Pence, 2015; Filipin *et al.*, 2016; Pence, 2018; Tomiczak *et al.*, 2023). However, for other purposes, storage in a freezer is much less expensive and requires less preparation time. Our findings demonstrate that the spores of *B. auriculatum* and *P. montevidensis* can be stored in freezer (at -20 °C) for at least one year, whereas in the case of *A. argentina*, new essays

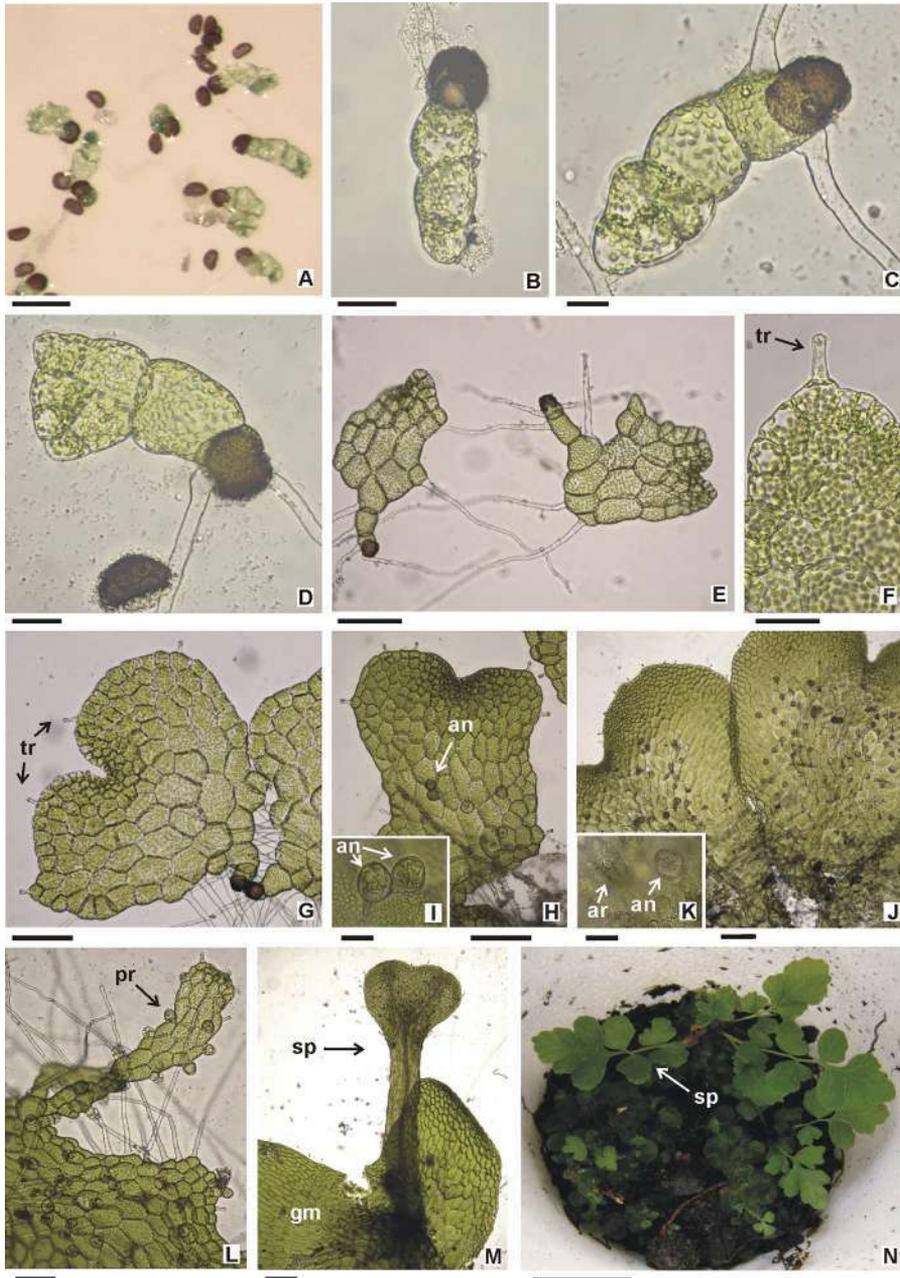


Fig. 2. *Amauropelta argentina* gametophyte and sporophyte development in cultures of spores stored 6 months in freezer. **A:** Earlier stages of gametophyte development. Some spores have not germinated. **B:** Three-celled filamentous gametophyte. **C:** Gametophyte at the beginning of the laminar phase. **D:** Gametophyte slightly wider after successive mitotic divisions. **E:** Laminar phase (left) and early cordiform phase (right). **F:** Detail of gametophyte margin with a unicellular glandular trichome. **G:** Cordiform gametophyte phase with scarce marginal trichomes. **H:** Elongated cordiform male gametophyte. **I:** Antheridia in detail. **J:** Symmetrical cordiform bisexual gametophytes. **K:** Gametangia (archegonia and antheridia) in detail. **L:** Proliferation of male gametophyte bearing antheridia. **M:** Sporophyte first leaf. **N:** More developed sporophyte with several leaves. Abbreviations= an: antheridium; ar: archegonium; gm: gametophyte; pr: proliferation; sp: sporophyte; tr: trichome. Scales= A, H, J, M: 200 μ m; B, F: 50 μ m; C-D, I, K: 25 μ m; E, G, L: 100 μ m; N: 2 cm.

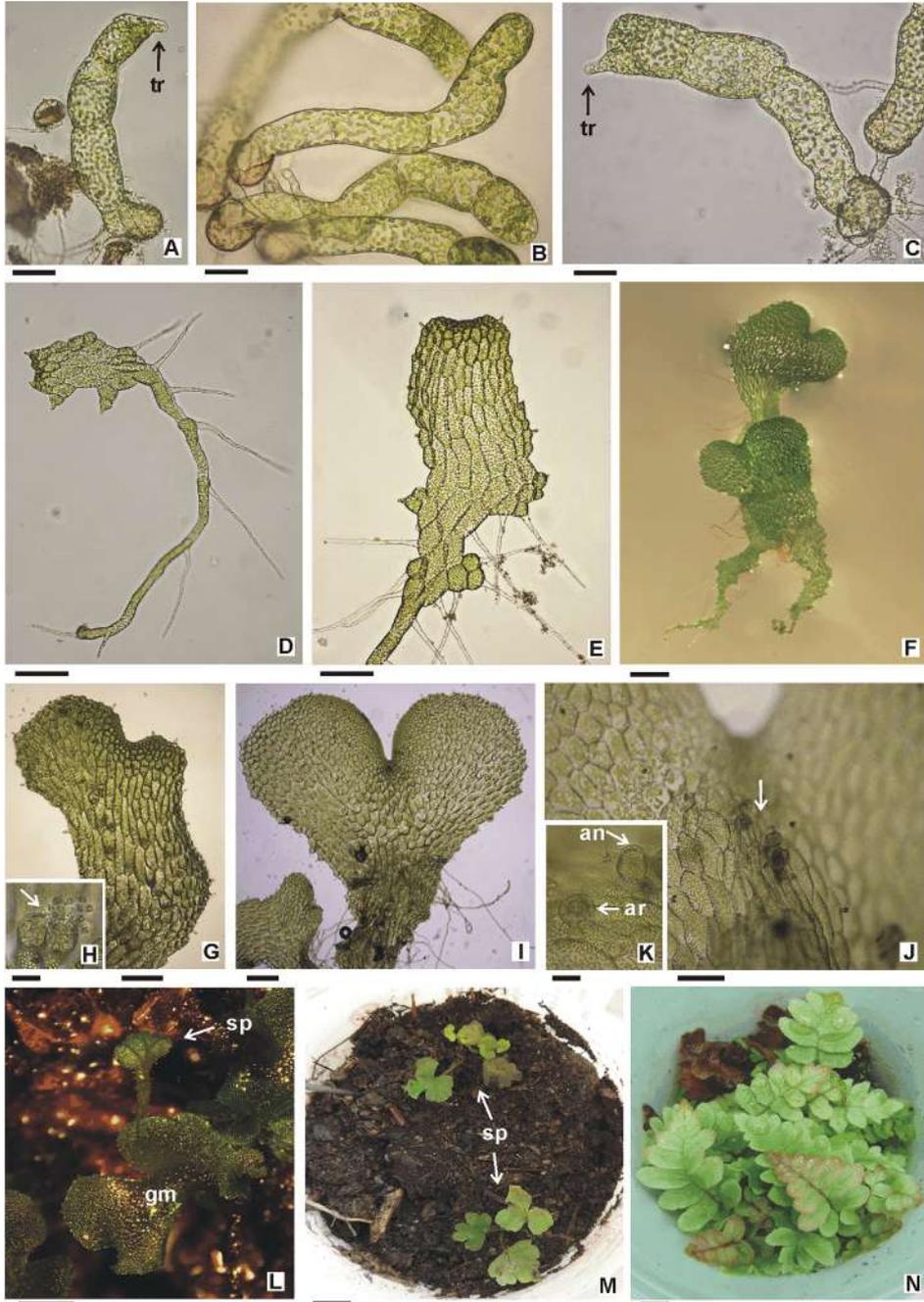


Fig. 3. *Blechnum auriculatum* gametophyte and sporophyte development in cultures of spores stored 12 months in freezer. **A:** Filamentous gametophyte phase with terminal trichome. **B:** Filaments without terminal trichome. **C:** Early laminar gametophyte phase. **D:** Laminar phase after successive mitosis. **E:** Early cordiform gametophyte phase. **F:** Mature cordiform gametophytes. **G:** Male gametophyte. **H:** Antheridia in detail (arrow). **I:** Symmetrical cordiform bisexual gametophyte. **J:** Gametangia near the notch (arrow). **K:** Magnified imagen of gametangia. **L:** Young sporophyte with first leaf. **M:** Sporophytes with 2-3 leaves. **N:** Sporophytes with several leaves with divided blade. Scales= A-C: 50 μ m; D-E, G, I: 200 μ m; F: 400 μ m; H, K: 25 μ m; J: 100 μ m; L: 3 mm; M: 5 mm; N: 1 cm.

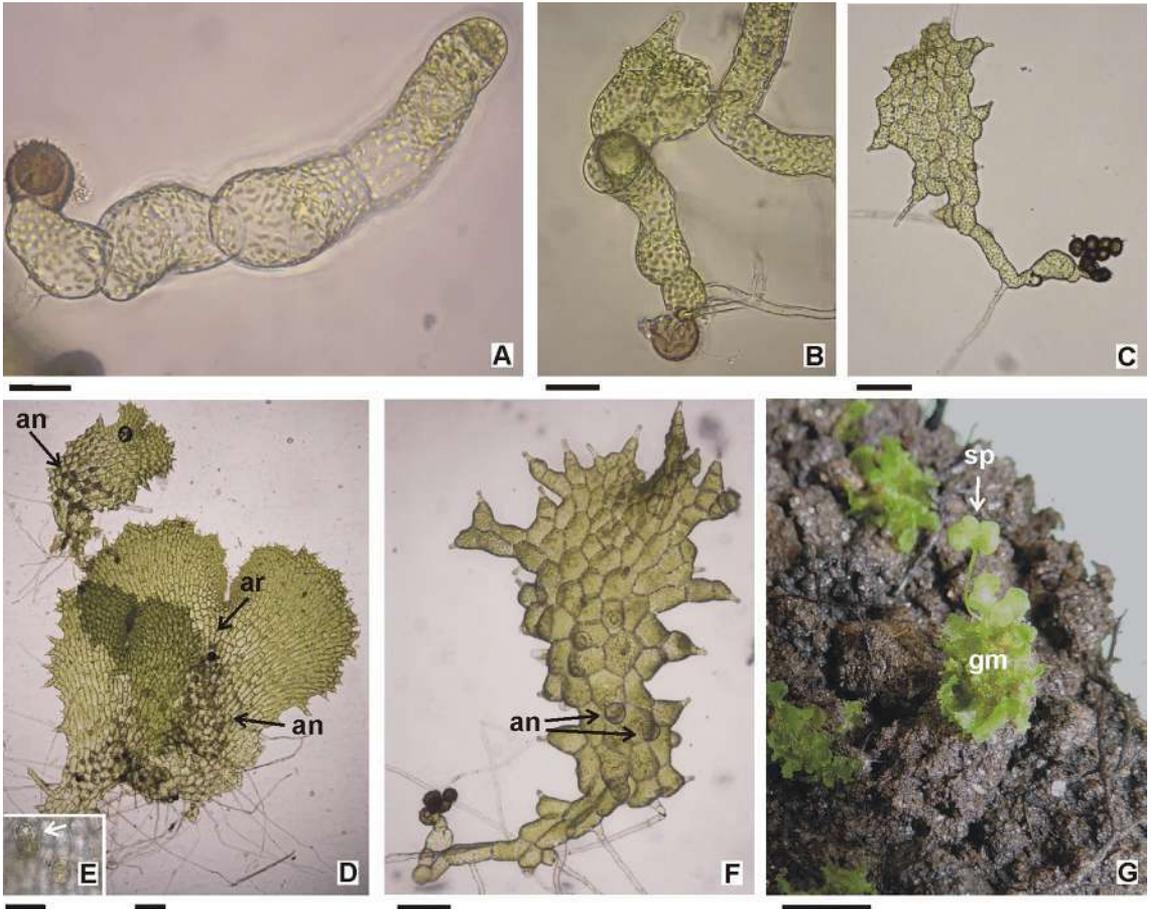


Fig. 4. *Physematium montevidensis* gametophyte and sporophyte development in cultures of spores stored 12 months in freezer. **A:** Filamentous gametophyte phase. **B:** Early laminar phase. **C:** Early cordiform phase. **D:** Unisexual male and bisexual gametophytes. **E:** An archegonium in detail. **F:** Magnified image of a male gametophyte. **G:** Young sporophyte with first leaves. Scales= A-B, E: 50 μ m; C-D, F: 200 μ m; G: 5 mm.

employing other storage and culture conditions will be tested to achieve a longer spore viability.

Concerning the developmental and morphological features of *B. auriculatum* and *P. montevidensis* gametophytes, they were previously described by Durán (1997) and Martinenco *et al.*, (2023), and our observations are in coincidence with them. For *A. argentina*, this information is provided here for the first time. The spore germination pattern is *Vittaria*-type and the gametophyte development follows the *Aspidium*-type (according to Nayar & Kaur, 1971). The gametophytic development of each species was similar in the different trials (i.e. using fresh spores and those stored at low temperatures).

This work constitutes the first report on the viability of spores of fern taxa native to Argentina conserved at low temperature. We intend to provide baseline information for future propagation and conservation studies in native ferns, particularly those which inhabit areas with severe periodic disturbances, as occurs in the central Mountains systems of Argentina.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MLM and MLL made the general conceptualization of the manuscript. MDA collected

the materials used in the essays. MLM and MLL realized the experimental tests and collected the data. All authors participated in the interpretation of data and in the preparation and writing of the manuscript.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr. Antonia Oggero for her collaboration during the sampling in the field. This research was supported by the Projects 11N/940 of the Universidad Nacional de La Plata (MLL), PICT 02227 of the ANPCyT (MLL), and PPI 2020 of the Universidad Nacional de Río Cuarto (MDA).

BIBLIOGRAPHY

- ARAGÓN, C. F. & E. PANGUA. 2004. Spore viability under different storage conditions in four rupicolous *Asplenium* L. taxa. *Am. Fern. J.* 94: 28-38.
- ARANA, M. D., M. PONCE & N. VISCHI. 2004. Sinopsis de los helechos y grupos relacionados (Pteridophyta) de la provincia de Córdoba, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 39: 89-114.
- ARANA, M. D., J. J. MORRONE, M. M. PONCE. & A. J. OGGERO. 2013. Patrones biogeográficos de los helechos de las sierras de Córdoba (Argentina) y sus implicancias en la conservación. *Gayana Bot.* 70: 357-376.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432013000200013>
- ARANA, M. D., E. NATALE, A. OGGERO, N. FERRETI, ... & J. J. MORRONE. 2021. Esquema biogeográfico de la República Argentina. *Opera Lilloana* 56: 1- 240.
- ARCAND, N. N. & T. A. RANKER. 2008. Conservation biology. En: RANKER, T. A. & C. H. HAUFLE (eds.), *Biology and evolution of ferns and lycophytes*, pp. 257-283. Cambridge University Press, Cambridge.
- ARGARAÑAZ, J. P., A. M. CINGOLANI, L. M. BELLIS & M. A. GIORGIS. 2020. Fire incidence along an elevation gradient in the mountains of central Argentina. *Ecol. Austral* 30:268-281.
<https://doi.org/10.25260/EA.20.30.2.0.1054>
- BALLESTEROS, D., E. ESTRELLES & A. M. IBARS. 2006. Responses of Pteridophyte spores to ultrafreezing temperatures for long term conservation in germplasm banks. *Fern Gaz.* 17: 293-302.
- BALLESTEROS, D. 2010. Conservation of Fern Spores. En: FERNÁNDEZ, H., A. KUMAR & M. A. REVILLA (eds.), *Working with ferns: issues and applications*, pp. 165-172. Springer, New York.
- BALLESTEROS, D., E. ESTRELLES, C. WALTERS & A. M. IBARS. 2012. Effects of temperature and desiccation on ex situ conservation of nongreen fern spores. *AJB* 99: 721-729.
- BALLESTEROS, D. & V. C. PENCE. 2018. Fern conservation: spore, gametophyte, and sporophyte ex situ storage, in vitro culture, and cryopreservation. En: FERNANDEZ, H. (ed.) *Current advances in fern research*, pp. 227-249. Springer, New York.
- BREMAN, E., BALLESTEROS, D., CASTILLO-LORENZO, E., COCKEL, ... & T. ULIAN. 2021. Plant diversity conservation challenges and prospects-the perspective of botanic gardens and the Millennium Seed Bank. *Plants* 10: 2371.
<https://doi.org/10.3390/plants10112371>
- DELLA, A. P. & D. G. FALKENBERG. 2019. Pteridophytes as ecological indicators: an overview. *Hoehnea* 46: e522018.
<https://doi.org/10.1590/2236-8906-52/2018>
- DURÁN, M. L. 1997. *Estudios morfológicos, taxonómicos y biosistemáticos en el género Blechnum (Blechnaceae-Pteridophyta)*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DYER, A. F. 1979. The Experimental Biology of Ferns. *Trans. Bot. Soc. Edinburgh* 43: 75-90.
- DYER, A. F. 1994. Natural soil spore banks-can they be used to retrieve lost ferns? *Biodivers. Conserv.* 3:160-175.
- FILIPIN, E. P., E. C. SCHMIDT, J. B. BARUFI, Z. L. BOUZON & A. M. RANDI. 2016. The Gametophyte of *Pleopeltis lepidopteris* (Langsd. & Fisch.) de la Sota (Polypodiaceae), a fern from restinga, after spore cryopreservation: morphological, ultrastructural, and physiological analyses. *IJPS* 177: 294-303.
- GABRIEL Y GALÁN, J. M. & C. PRADA. 2010. Pteridophyte spores viability. En: HERNÁNDEZ, H., A. KUMAR & M. A. REVILLA (eds.), *Working with ferns: issues and applications*, pp. 193-205. Springer, New York.
- GOSWAMI, H. K., K. SEN & R. MUKHOPADHYAY. 2016. Pteridophytes: evolutionary boon as medicinal plants. *Plant Genet. Resour.* 14: 328-355.
<https://doi.org/10.1017/S1479262116000290>

- HUANG, Y. M., Y. H. CHANG & W. L. CHIOU. 2019. Edible ferns and lycophytes in Asia. *Fern Gaz.* 21:45-68.
- IBARS A. M. & E. ESTRELLES. 2012. Recent developments in ex situ and in situ conservation of ferns. *Fern Gaz.* 19:67-86.
- LEE, C. H. & S. L. SHIN. 2011. Functional activities of ferns. En: FERNÁNDEZ, H., A. KUMAR & M. A. REVILLA (eds.), *Working with ferns: issues and applications*, pp. 347-359. Springer, New York.
- LIU, Y., W. WUJISGULENG & C. LONG. 2012. Food uses of ferns in China: a review. *Acta Soc. Bot. Pol.* 81: 263-270. <https://doi.org/10.5586/asbp.2012.046>
- MANNAN, M., M. MARIDASS & B. VICTOR. 2008. A review on the potential uses of ferns. *EBL* 12: 281-285.
- MARTINENCO, M. L., M. D. ARANA & M. L. LUNA. 2023. Morphogenesis of the gametophyte of *Physematum montevidensis* (Woodsiaaceae). *Rodriguésia* 74: e00742023. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202374082>
- MEHLTRETER, K. 2010. Fern conservation. En: MEHLTRETER, K., L. R. WALKER, J. M. SHARPE (eds.), *Fern Ecology*, pp. 323-359. Cambridge University Press, Cambridge. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511844898.010>
- MIKULA, A., K. JATA & J. J. RYBCZYŃSKI. 2009. Cryopreservation strategies for *Cyathea australis* (R.Br.) Domin. *CryoLetters* 30: 429-439.
- MIKUŁA, A., K. TOMICZAK, D. MAKOWSKI, M. NIEDZIELSKI & J. J. RYBCZYŃSKI. 2015. The effect of moisture content and temperature on spore aging in *Osmunda regalis*. *APP* 37: 1-11.
- MORGAN, P., C. C. HARDY, T. W. SWETNAM, M. G. ROLLINS & D. G. LONG. 2001. Mapping fire regimes across time and space: understanding coarse and fine-scale patterns. *IJWF* 10: 329-342. <https://doi.org/10.1071/WF01032>
- NAYAR, B. K. & S. KAUR. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Bot. Rev.* 37: 295-396.
- OGGERO, A. J. & M. D. ARANA. 2012. Inventario de la biodiversidad de plantas vasculares del sur de la zona serrana de Córdoba, Argentina. *Hoehnea* 39: 169-197. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062012000200002>
- PENCE, V. C. 2002. Cryopreservation and in vitro methods for ex situ conservation of Pteridophytes. *Fern Gaz.* 16: 362-369.
- PENCE, V. C. 2008. Ex situ conservation of ferns and lycophytes-approaches and techniques. En: RANKER, T. A. & C. H. HAUFFLER (eds.), *Biology and evolution of ferns and lycophytes*, pp. 284-300. Cambridge University Press, Cambridge.
- PENCE, V. C. 2015. Propagation and cryopreservation of *Asplenium scolopendrium* var. *americanum*, the American hart's-tongue fern. *Am. Fern J.* 105: 211-225. <https://doi.org/10.1640/0002-8444-105.3.211>
- PENCE, V. C. 2018. Growth of fern gametophytes after 20 years of storage in liquid nitrogen. *Fern Gaz.* 20: 337-346.
- QUINTANILLA, L. G., J. AMIGO, E. PANGUA & S. PAJARON. 2002. Effect of storage method on spore viability in five globally threatened fern species. *Ann. Bot.* 90: 461-467.
- SHARPE, J. M., K. MEHLTRETER & L. R. WALKER. 2010. Ecological importance of ferns. En: MEHLTRETER, K., L. R. WALKER & J. M. SHARPE (eds.), *Fern Ecology*, pp. 1-21. Cambridge University Press, Cambridge.
- SHEFFIELD, E. 1996. From pteridophyte spore to sporophyte in the natural environment. En: CAMUS, M. G. J. M. & R. JOHNS (eds.), *Pteridology in perspective*, pp. 541-549. Royal Botanic Gardens, Kew.
- TAYLOR, S. & L. KUMAR. 2016. Global climate change impacts on pacific islands terrestrial biodiversity: a review. *Trop. Conserv. Science* 9: 203-223. <https://doi.org/10.1177/194008291600900111>
- TOMIZAC, K., D. MAKOWSKI, E. SLIWINSKA & A. MIKULA. 2023. The development of an in vitro propagation and conservation system for the endangered serpentine fern *Asplenium cuneifolium*. *PCTOC* 154: 161-175. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02524-4>
- VARGAS, I. B. D. & A. DROSTE. 2014. In vitro propagation of *Cyathea atrovirens* (Cyatheaceae): spore storage and sterilization conditions. *Rev. Biol. Trop.* 62: 359-368.
- WHELAN, R. J. 1995. *The ecology of fire*. Cambridge University Press, Cambridge.



ESTUDIO PALINOLÓGICO DE LAS LICOFITAS (LYCOPODIOPSIDA) DE LAS SIERRAS PAMPEANAS CENTRALES DE ARGENTINA

PALYNOLOGICAL STUDY OF THE LYCOPHYTES (LYCOPODIOPSIDA) FROM THE SIERRAS PAMPEANAS CENTRALES OF ARGENTINA

C. Cecilia Macluf^{1*}, Marcelo D. Arana^{2,3}, Gabriela E. Giudice¹ & M. Luján Luna¹

1. Laboratorio de Anatomía Comparada, Conservación y Propagación de Embriofitas “Dr. Elías R. de la Sota” (LACPE), Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

2. Instituto Criptogámico, Área Botánica, Fundación Miguel Lillo, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

3. Grupo GIVE, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Instituto ICBIA (UNRC-CONICET), Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina

*ccmacluf@fcnym.unlp.edu.ar

Citar este artículo

MACLUF, C. C., M. D. ARANA, G. E. GIUDICE & M. L. LUNA. 2024. Estudio palinológico de las Licofitas (Lycopodiopsida) de las Sierras Pampeanas centrales de Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 311-320.

 DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v59.n3.44725>

Recibido: 14 Abr 2024

Aceptado: 5 Jun 2024

Publicado en línea: 30 Sep 2024

Publicado impreso: 30 Sep 2024

Editor: Gonzalo J. Márquez 

ISSN versión impresa 0373-580X

ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: The Sierras Pampeanas Centrales of Argentina constitute the fourth centre of diversity of lycophytes and ferns in the Cono Sur, where representatives of four families of lycophytes live: Huperziaceae, Lycopodiaceae, Isoetaceae and Selaginellaceae. The aim of this work is to provide data of the morphology of their spores observed with optical and scanning electron microscopes, as a contribution to the taxonomy and conservation.

M&M: The materials were analysed without prior chemical treatment and photographic records were obtained with both observation equipments.

Results: The morphological diagnostic features of the spores are presented. The Huperziaceae and Lycopodiaceae are isosporous with trilete spores. Huperziaceae presents foveolated or fossulated spores, while Lycopodiaceae spores are reticulate, scabrate and baculate. In *Isoetes hieronymi* (heterosporate), the microspores are monolete with echinate ornamentation, while the megaspores are trilete, with reticulate ornamentation. The Selaginellaceae, all heterosporate, produce trilete microspores and megaspores, both with varied ornamentation.

Conclusions: Spore characteristics provide relevant information for regional floristic studies as well as for taxonomic assignments, both of extant flora and fossil records. Also, for studies of the composition of soil spore banks as a tool for the conservation of local floristic biodiversity.

KEY WORDS

Argentina, lycophytes, morphology, spores, systematics.

RESUMEN

Introducción y objetivos: Las Sierras Pampeanas Centrales de Argentina constituyen el cuarto centro de diversidad de licofitas y helechos del Cono Sur, donde habitan representantes de cuatro familias de Licofitas: Huperziaceae, Lycopodiaceae, Isoetaceae y Selaginellaceae. El objetivo de este trabajo es aportar datos sobre la morfología de las esporas observadas con microscopios óptico y electrónico de barrido como contribución a la taxonomía y conservación.

M&M: El material fue analizado sin tratamiento químico previo y se obtuvieron registros fotográficos con ambos equipos de observación.

Resultados: Se presentan las características diagnósticas de la morfología de las esporas. Las Huperziaceae y Lycopodiaceae son isosporadas con esporas triletes. Huperziaceae presenta esporas foveoladas o fosuladas, mientras que en las Lycopodiaceae las esporas son reticuladas, escabradas y baculadas. En *Isoetes hieronymi* (heterosporada), las microsporas son monoletes con ornamentación equinada, en tanto que las megasporas son triletes, con ornamentación reticulada. Las Selaginellaceae, todas heterosporadas, producen microsporas y megasporas triletes, ambas con ornamentación variada.

Conclusiones: Las características de las esporas aportan información relevante para estudios florísticos regionales así como para asignaciones taxonómicas, tanto de la flora actual como de registros fósiles. También, para estudios de la composición de los bancos de esporas del suelo como herramienta para la conservación de la biodiversidad florística local.

PALABRAS CLAVE

Argentina, esporas, licofitas, morfología, sistemática.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad las licofitas son las plantas vasculares más antiguas y fueron el principal componente de la vegetación del Paleozoico Tardío (Wikstrom & Kenrick, 2001). En el presente existen unas 1.200 especies de licofitas, que pertenecen a tres linajes diferentes (Lycopodiales, Isoëtales y Selaginellales), los que habrían divergido durante el Paleozoico (PPG I, 2016). Entre ellas, las especies de *Phlegmariurus* Holub, *Lycopodiella* Holub, *Palhinhaea* Vasc. & Franco y *Lycopodium* L., se encuentran comúnmente en los bosques del hemisferio sur. El género *Selaginella* Pal. Beauv. es más diverso en los trópicos, donde muchas especies crecen como epífitas, mientras que *Isoetes* L. es un relicto del linaje que incluye especies gigantes del Carbonífero (Bateman *et al.*, 1992). Las Sierras Centrales de Argentina, la entidad orográfica más oriental de las Sierras Pampeanas, es un área de integración de elementos bióticos con distribuciones e historias biogeográficas variadas (Arana *et al.*, 2013, 2021; Martínez *et al.*, 2017). Constituyen el cuarto centro de diversidad de licofitas y helechos del Cono Sur de América del Sur, donde habitan representantes de las cuatro familias de Licofitas: Huperziaceae Rothm., Lycopodiaceae P. Beauv. ex Mirb. (ambas pertenecientes a Lycopodiales); Isoetaceae Rchb. (Isoëtales) y Sellaginellaceae Willk. (Selaginellales) (Arana *et al.*, 2004; Arana & Bianco, 2011). Particularmente para las licofitas, las Sierras Centrales de Argentina constituyen el extremo austral de un componente biótico ancestral, estando estrechamente vinculadas con las Sierras Subandinas y Andes del Norte (Arana *et al.*, 2011).

Este trabajo comprende el estudio palinológico de las especies de licofitas que crecen en los sistemas serranos pampeanos del centro de Argentina: *Phlegmariurus saururus* (Lam.) B. Øllg., *Lycopodium clavatum* L., subsp. *clavatum*, *Diphasiastrum thyoides* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Holub, *Isoetes hieronymi* U. Weber, *Selaginellamicrophylla* (Kunth) Spring, *Bryodesma peruvianum* (Milde) Sojak y *Bryodesma sellowii* (Hieron.) Sojak.

En estudios previos sobre licofitas de Argentina se abordan aspectos taxonómicos y morfo-anatómicos, siendo escasos los trabajos palinológicos. Morbelli (1977) y Morbelli *et al.* (2001) estudiaron la esporodermis de megasporas y

microsporas de ocho especies de *Selaginella* (sensu lato) que crecen en Argentina. Posteriormente, di Pasquo *et al.* (2016) describieron las esporas de *B. sellowii* (como *Selaginella sellowii*). Por su parte, Macluf (2012) y Macluf *et al.* (2006) analizaron las megasporas y microsporas de *Isoetes* en el cono sur de América del Sur. Con respecto a las Lycopodiaceae, Rolleri (1971) estudió las especies de *Lycopodium* (sensu lato) del noroeste de Argentina, con una breve descripción de las esporas, y Ramos Giacosa *et al.* (2016) estudiaron la morfología y ultraestructura de la pared de esporas de distintos taxones del noroeste de Argentina. Tryon & Lugardon (1991) analizaron especies pertenecientes a cuatro géneros de licofitas con microscopio electrónico de barrido y de transmisión, y finalmente Rincón *et al.* (2014) analizaron las esporas de representantes de ocho géneros que crecen en Colombia.

El objetivo de este trabajo es aportar datos sobre la morfología de las esporas de las especies de licofitas que crecen en las Sierras Pampeanas centrales de Argentina, observadas con microscopios óptico y electrónico de barrido, como contribución a la taxonomía de los linajes a los que pertenecen estas especies, dada la escasez de información sobre la morfología y ultraestructura de las esporas de licofitas en general, la cual es esencial para respaldar las relaciones taxonómicas y sistemáticas en el grupo (Zhang & Zhou, 2022; Zhou & Zhang, 2023). La información surgida de este estudio aportará también a la identificación de las esporas contenidas en los bancos del suelo, los cuales constituyen reservorios de la biodiversidad de un lugar (Dyer & Lindsay, 1992).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las observaciones se basaron en materiales frescos y de herbario. Los herbarios consultados fueron CORD, LIL, LP, RCVC y SI (Thiers, 2024). Para el estudio con microscopio óptico (MO) y microscopio electrónico de barrido (MEB), el material fue analizado sin tratamiento químico previo y se obtuvieron registros fotográficos con ambos medios de observación.

Para su observación al MEB las esporas fueron montadas sobre cinta bifaz en porta-especímenes de bronce y posteriormente metalizadas con oro.

Se examinaron con un microscopio FEI Quanta 200 model del Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis del LIMF, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata. Para su observación al MO, las esporas fueron montadas en portaobjetos con gelatina glicerina. Se estudiaron y fotografiaron con un microscopio Nikon E200.

Las medidas y otros caracteres de las esporas analizadas se obtuvieron con el programa Image J versión IJ 1.46r (Ferreira & Rasband, 2012). Las dimensiones fueron estimadas en 25 esporas por espécimen y los valores máximos y mínimos fueron expresados en micrómetros (μm). Para la descripción de la ornamentación se utilizaron los términos propuestos por Lellinger (2002) y Tryon & Lugardon (1991).

Material estudiado

Isoetaceae: *Isoetes hieronymi* U. Weber. ARGENTINA. Prov. de Córdoba: Dpto. San Alberto, RP 34, entrada al Parque Nacional Quebrada del Condorito, Marquez *et al.*, 233 (LP). Lycopodiaceae: *Diphasiastrum thyoides* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Holub. ARGENTINA. Prov. de Córdoba: Dpto. San Alberto: Pampa de Achala, alrededores del colegio Liqueño, Altamirano *s.n.* (CORD 685). *Lycopodium clavatum* L. ARGENTINA. Prov. de Córdoba: Dpto. Calamuchita: Sierra de Comechingones, Quebrada del Rayo, pastizal, Bianco & Cantero 5164 (RCVC, RIOC). Huperziaceae: *Phlegmariurus saururus* (Lam.) B. Øllg. ARGENTINA. Prov. de Córdoba: Dpto. San Alberto: Pampa de Achala, pastizal, Arana *s.n.* (RCVC 3707). Selaginellaceae: *Bryodesma peruvianum* (Milde) Sojak. ARGENTINA. Prov. de Córdoba: Dpto. San Alberto. Los Gigantes, von Müller *s.n.* (RCVC 345). *Bryodesma sellowii* (Hieron.) Sojak. ARGENTINA. Prov. de Córdoba: Dpto. Calamuchita: Zona Embalse Río Tercero, Bocco *s.n.* (RCVC 936). *Selaginella microphylla* (Kunth) Spring. ARGENTINA. Prov. de Córdoba: Dpto. Río Cuarto: Las Albahacas, Sierra de Comechingones, Arana & Oggero *s.n.* (RCVC).

RESULTADOS

A continuación, se presentan las características de la morfología de las esporas como forma, diámetro, características de la lesura y ornamentación de la esporodermis.

Las esporas de las Lycopodiales (Huperziaceae y Lycopodiaceae) son triletes, de forma subglobosa con la cara distal hemisférica, y a veces con ángulos marcados de contorno triangular.

Huperziaceae

Phlegmariurus saururus (Fig. 1 A-D): Es una licofita homosporada. Las esporas en vista polar son subtriangulares a subglobosas, de ángulos redondeados. En vista ecuatorial la cara distal es hemisférica y la proximal plano-convexa. El diámetro ecuatorial varía entre 20-50 μm . La ornamentación es diferencial, la cara distal es fosulada a foveolada con una ornamentación de base representada por equínulas y la cara proximal es levigada. La transición de la ornamentación entre ambas caras es evidente en vista ecuatorial. La lesura es lisa en toda su superficie y los radios se extienden aproximadamente hasta el ecuador. La longitud es de 23 μm y el ancho 2,6 μm .

Lycopodiaceae

Lycopodium clavatum subsp. *clavatum* (Fig. 1 E-H): Es una licofita homosporada. Las esporas en vista polar son subtriangulares a globosas, de ángulos redondeados. En vista ecuatorial la cara distal es hemisférica y la proximal convexa. El diámetro ecuatorial varía entre 30-50 μm . La ornamentación es reticulada en toda la superficie, los muros del retículo están constituidos por cordones que se anastomosan entre sí dando lugar a una estructura abierta. Tienen 0,5-0,6 μm de ancho y delimitan lóculos homogéneos de 3-6 μm de diámetro. Se observan además báculas en las áreas de contacto de la cara proximal. La lesura, de margen contorneado y con radios que no se extienden hasta el ecuador, presenta rúgulas cortas, apenas marcadas en su superficie. Tiene una longitud de 10-13 μm y un ancho de 1-1,2 μm .

Diphasiastrum thyoides (Fig. 1 I-L): Es una licofita homosporada. Las esporas en vista polar son subtriangulares, en vista ecuatorial la cara distal es hemisférica y la proximal convexa. El diámetro ecuatorial varía entre 28-32 μm . La ornamentación es reticulada en toda la superficie, los muros del retículo están constituidos por cordones que se anastomosan entre sí dando lugar a una estructura abierta. Los muros tienen 0.7-1 μm de ancho, y delimitan lóculos heterogéneos principalmente en la cara distal. La lesura, delgada-crestada, ondulada, y con radios que se extienden hasta el ecuador. Tiene una longitud de 15-17 μm y un ancho de 3-5 μm . Es una lesura

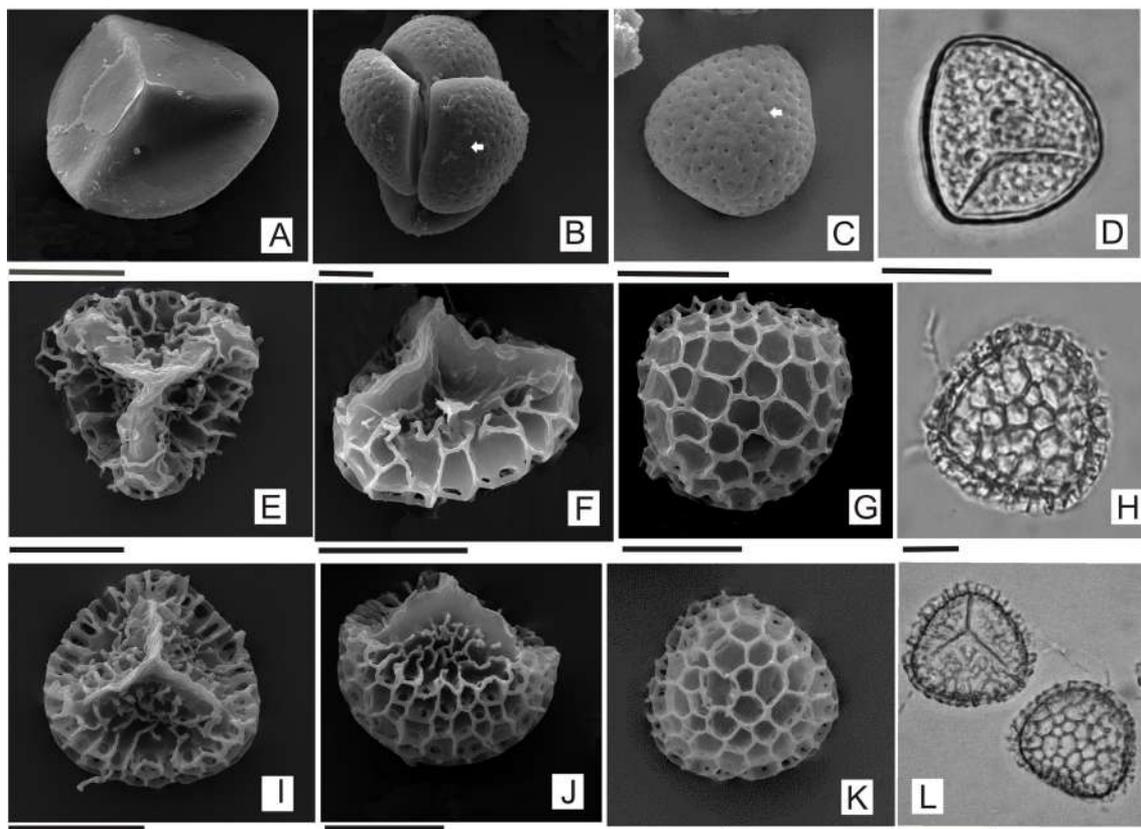


Fig. 1. A-D: *Phlegmariurus saururus*. A-C: esporas vistas al MEB. A: Vista polar proximal. B: Tétrade. C: Vista polar distal. D: Vista polar proximal al MO. E-H: *Diphasiastrum thyooides*. E-G: esporas vistas al MEB. E: Vista polar proximal. F: Vista ecuatorial. G: Vista polar distal. H: Vista polar distal al MO. I-L. *Lycopodium clavatum* ssp. *clavatum*. I-K: esporas vistas al MEB. I: Vista polar proximal. J: Vista ecuatorial. K: Vista polar distal. L: Vistas proximal y distal al MO. Escalas= A-L: 20 µm.

crasimarginada, con una estructura maciza claramente proyectada sobre la superficie.

Isoetaceae

Licofitas heterosporadas, producen microsporas monoletes, elípticas a esferoidales, con una ornamentación levigada, equinada, tuberculada, crestada, verrucosa o rugulada; las megasporas son triletas, tetraédrica-globosas, triangulares o subtriangulares, con escultura levigada, rugulada, reticulada, tuberculada, verrucosa o baculada.

Isoetes hieronymi (Fig. 2 A-F): Las microsporas son elípticas en vista polar. En vista ecuatorial, biconvexas, con una expansión supra-lesural bien desarrollada de 5.5 µm de altura. El diámetro ecuatorial varía entre 34 µm de longitud y 24 µm de ancho. La lesura,

recta, de 26 µm de longitud y de 4-5 µm de ancho. La expansión perpendicular a la lesura (“swelling”) es evidente. La ornamentación es equinada en toda la superficie incluyendo la lesura. En la cara proximal presenta procesos en menor número y de menor altura. En toda la superficie distal se observan además de las espinas, procesos de forma variada tales como perforaciones, gránulos, verrugas y báculos de menor altura conformando la ornamentación de base. Una proyección ecuatorial es evidente con la misma ornamentación que el resto.

Las megasporas son subtriangulares a globosas en vista polar. La cara proximal es convexa y la distal hemisférica. Diámetro ecuatorial entre 360 a 410 µm. La lesura es delgada, recta y sus paredes están ornamentadas con equinulas. Ocupa el radio total

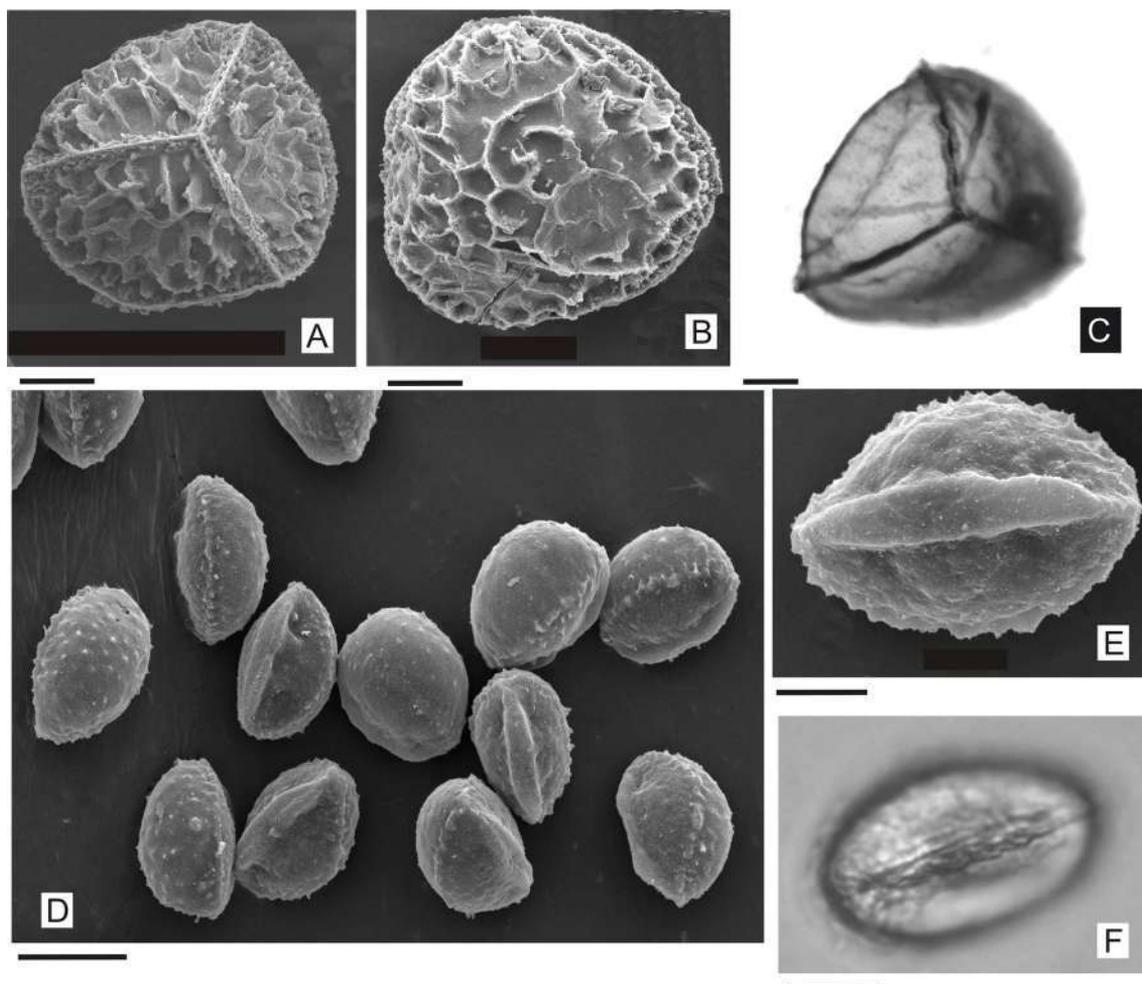


Fig. 2. *Isoetes hieronymi*. **A-C:** Megasporas. A: Vista polar proximal al MEB. B: Vista polar distal al MEB. C: Vista polar proximal al MO. **D-F:** Microsporas, D: diversas vistas de microsporas al MEB, E: Vista polar proximal al MEB. F: Vista polar proximal al MO. Escalas= A-C: 100 μm ; D: 20 μm ; E-F: 10 μm .

de la espora y se une a la “zona” ecuatorial. Tiene una longitud de 210 μm y 28.4 μm de ancho. La ornamentación es reticulada, heterobrochada, en toda la superficie de la espora, con lúmenes irregulares y muros altos con equínulas en los márgenes. La ornamentación de base de los lúmenes está constituida por una malla de cordones densamente distribuidos y anastomosados. En la cara distal, los muros son más altos en los brocha centrales y de menor altura hacia el ecuador. La “zona” ecuatorial de 27 μm de ancho está enmascarada por la ornamentación. La banda sub-ecuatorial o “girdle” presenta equínulas en su superficie. En la superficie ecuatorial, la

ornamentación de base está representada por cordones anastomosados que forman una malla densamente apretada.

Selaginellaceae

Licofitas heterosporadas, producen microsporas triletas, tetraédrico-globosas, con una ornamentación rugulada, baculada o estriada, y megasporas triletas, tetraédrico-globosas, con escultura reticulada, baculada, verrucosa, granulada o escabrada.

Bryodesma sellowii (Fig. 3 A-D): Las microsporas son subtriangulares a esferoidales en vista polar. La cara proximal es convexa y la distal hemisférica

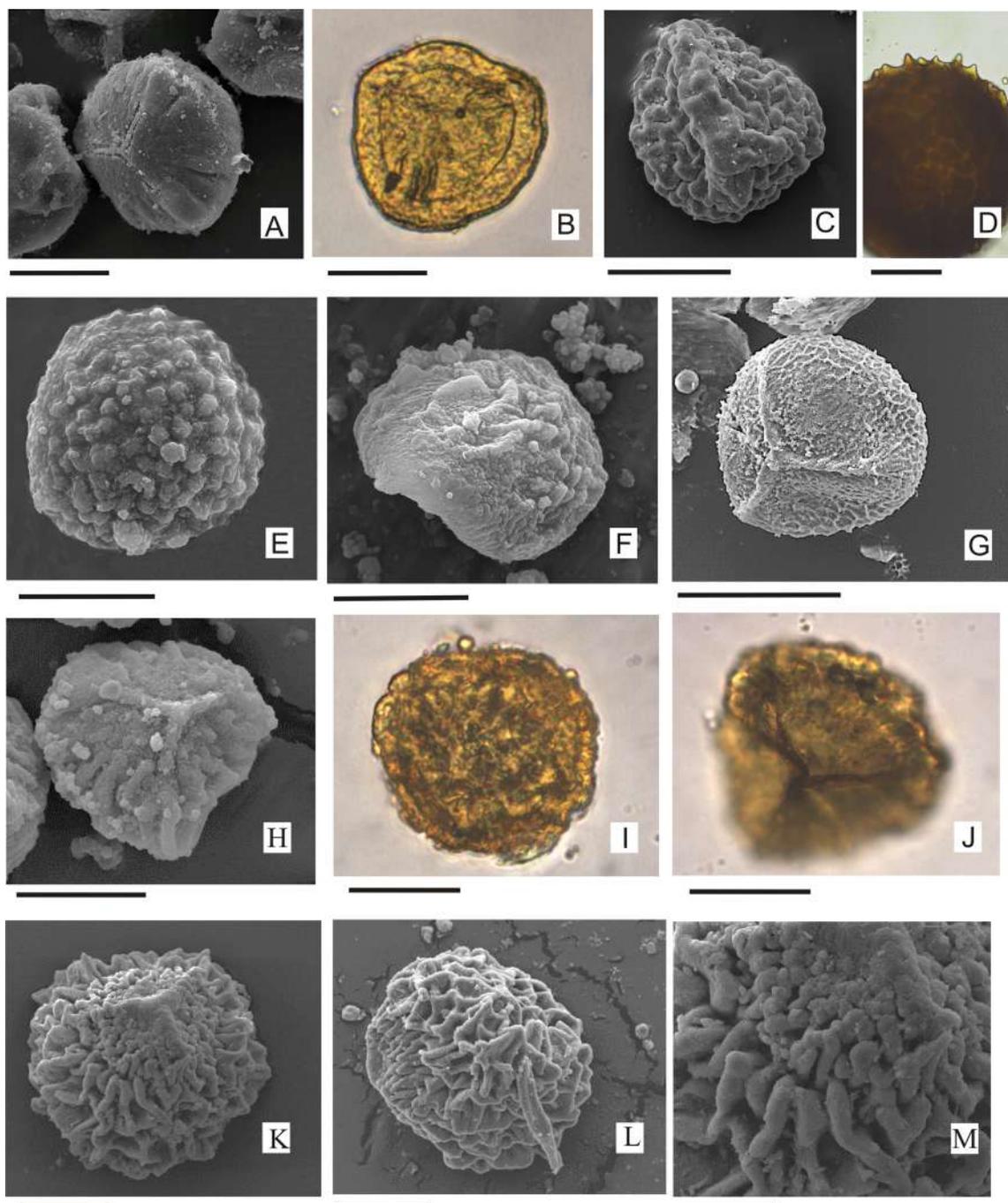


Fig. 3. A-D: *Bryodesma sellowii*. A: Vista polar proximal de megasporas al MEB. B: Vista polar proximal de megaspora al MO. C: Vista polar proximal de microspora al MEB. D: Vista de superficie distal de microspora al MO. **E-G: *Selaginella microphylla*.** E: Vista polar distal de microspora al MEB. F: Vista ecuatorial de microspora al MEB. G: Vista polar proximal de megaspora al MEB. **H-M: *Bryodesma peruvianum*.** H: Vista polar proximal de microspora al MEB. I-J: vistas de microsporas al MO. I: Vista polar distal. J: Vista polar proximal. K-M. Megasporas al MEB. K: Vista polar proximal. L: Vista ecuatorial. M: Detalle de ornamentación proximal. Escalas= A-F: 20 µm; G: 200 µm; H-J: 30 µm. K-L: 100 µm; M: 50 µm.

en vista ecuatorial. Diámetro ecuatorial de 38-50 μm de. La lesura es recta y sus radios llegan hasta el ecuador. Tiene una longitud de 18-23 μm y un ancho de 2-3 μm . En las áreas de contacto se observan pliegues de margen romo, de disposición radial que conforman la ornamentación principal y microgránulos como ornamentación de base. En la cara distal la ornamentación está representada por microgránulos en toda la superficie. En algunos casos se pudo observar una zona o engrosamiento ecuatorial muy delgado.

Las megasporas son subtriangulares en vista polar. La cara proximal es plano-convexa y la distal hemisférica. Diámetro ecuatorial de 250-300 μm . La lesura se observa maciza, redondeada en sección, con una longitud de 150-170 μm y un ancho de 45-60 μm . La ornamentación en toda la superficie está representada por rúgulas cortas, bien marcadas y la presencia de perforaciones como ornamentación de base. En el ecuador se observa el desarrollo de una expansión de 38-53 μm de ancho.

Bryodesma peruvianum (Fig. 3 H-M): Las microsporas son subtriangulares a esferoidales en vista polar. La cara proximal es plano-convexa y la distal hemisférica, en vista ecuatorial. Diámetro ecuatorial entre 47-50 μm . La lesura es maciza, sinuosa, roma en sección, sus radios son cortos, de 11-13 μm de longitud y 1-2 μm de ancho. La ornamentación está representada por pliegues en toda la superficie, con gránulos como ornamentación de base. En las áreas de contacto de la cara proximal los pliegues se disponen radialmente mientras que en la cara distal su distribución es desordenada.

Las megasporas son globosas en vista polar y biconvexa en vista ecuatorial. Diámetro ecuatorial entre 160 a 510 μm . La lesura es maciza, sus radios son cortos y no llegan hasta el ecuador, presenta una ornamentación verrucosa con perforaciones como ornamentación de base. Tiene una longitud de 70 μm a 110 μm y 15-22 μm ancho. La cara distal de la espora presenta una ornamentación reticulada, homobrochada, con lúmenes homogéneos, de 14-22 μm de diámetro, con muros gruesos, de 6-14 μm de ancho y con un microretículo como ornamentación de base. Las áreas de contacto de la cara proximal presentan una red tridimensional de cordones anastomosados que se disponen apretadamente. En el resto de la superficie proximal cercana al ecuador, los cordones están dispuestos radialmente.

Selaginella microphylla (Fig. 3 E-G): Las microsporas son subtriangulares a esferoidales en vista polar. La cara proximal es plano-convexa y la distal hemisférica en vista ecuatorial. Diámetro ecuatorial de 27-49 μm . La lesura se observa sinuosa y sus radios cortos no llegan al plano ecuatorial, con una longitud de 5-7 μm . En las áreas de contacto se observan verrugas en escasa cantidad. En la cara distal las verrugas están densamente distribuidas con escasa separación entre ellas y se observan gránulos como ornamentación de base. En el ecuador, la presencia de una expansión levigada de 7-9 μm de ancho, desplazada hacia la cara proximal, es evidente.

Las megasporas son subtriangulares a globosas en vista polar. La cara proximal es plano-convexa y la distal hemisférica en vista ecuatorial. De 170-270 μm de diámetro ecuatorial. La lesura es delgada, de radios cortos y rectos, con gránulos en la superficie, de 112-170 μm de longitud y 12-16 μm de ancho. La ornamentación es reticulada en toda la superficie de la espora, con muros romos en sección y que delimitan lúmenes heterogéneos. En la cara proximal algunos muros se observan incompletos. En el ecuador los muros tienen una marcada disposición radial. Como ornamentación de base, se observan equínulas producto de la fusión de algunos de los cordones que están dispuestos formando una malla abierta a la superficie.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En los taxones de licofitas homosporadas estudiados se han podido establecer básicamente dos patrones de ornamentación, foveolado en Huperziaceae y reticulado en Lycopodiaceae, características que permiten diferenciar los taxones a nivel de familia, lo que apoya lo propuesto por Zhang & Zhou (2022) en cuanto a su relevancia para resolver cuestiones taxonómicas y sistemáticas en el grupo.

Con respecto a las especies de Selaginellaceae, se ha demostrado que las características de las esporas son muy importantes taxonómicamente, incorporándose las características de las mismas en las últimas clasificaciones de la familia (Zhou & Zhang, 2015, 2023; Weststrand & Korall, 2016a, b). Particularmente para las

especies provenientes del área de estudio, las microsporas aportan los caracteres diagnósticos más importantes, debido a que presentan características más estables independientemente del grado de desarrollo. Esto no sucede con las megasporas, por lo que se consideran como una herramienta adicional para una identificación más acertada a nivel de especie, si bien la ornamentación reticulada de estas esporas es un carácter homoplásico que evolucionó al menos tres veces en los diferentes linajes de la familia (Zhou & Zhang, 2023). Coincidimos además con Morbelli (1977), con respecto a la existencia de caracteres comunes entre las megasporas y las microsporas de Selaginellaceae, como son las características de la lesura y la ornamentación diferencial, bien definida y marcada en la cara distal y apenas marcada en la cara proximal. Esta particularidad demostraría una probable relación entre las esporas de las Selaginellaceae y las Lycopodiaceae. Asimismo, en las Isoetaceae las microsporas pueden utilizarse como herramienta fundamental en la determinación de los taxones (Macluf *et al.*, 2006), mientras que las megasporas pueden aportar como ya se mencionó para otros casos, información adicional para su ajuste.

Las características morfológicas de las esporas analizadas también aportan información relevante para estudios florísticos regionales y para las diferentes asignaciones taxonómicas, tanto de la flora actual como de registros fósiles. Existe además evidencia de que los suelos pueden constituir reservorios de esporas viables de helechos y licofitas (Dyer & Lindsay, 1992; Ranal, 2003; Ramírez Trejo *et al.*, 2004; Berrueta *et al.*, 2021), de modo que los estudios palinológicos permiten conocer la biodiversidad contenida en los mismos y aportar a su conservación (Paul *et al.*, 2014).

Finalmente, resultaría interesante incorporar estudios con microscopía electrónica de transmisión (MET) para analizar la ultraestructura de la esporodermis, lo que permitirá conocer su origen y desarrollo, así como también comparar con registros fósiles para establecer las afinidades botánicas. Estudios como los de Morbelli *et al.* (2001) y Ramos Giacosa *et al.* (2016) incluyen estudios con MET pero solo para algunas especies de Selaginellaceae y Lycopodiaceae que crecen en Argentina.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

CCM: obtención y análisis de imágenes de esporas, redacción del manuscrito. MA: colección del material en el campo y consulta a herbario, redacción del manuscrito. GG: obtención de imágenes de esporas, preparación de las figuras, redacción del manuscrito. MLL: obtención de material y de imágenes de esporas, redacción del manuscrito. Todos los autores revisaron y editaron el manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Subsidios: Proyectos UNLP N850 (GG) y N950 (CCM). Proyecto PPI UNRC083/2020 (MA). PICT 02227 (MLL).

BIBLIOGRAFÍA

- ARANA, M. D., M. PONCE & N. VISCHI. 2004. Sinopsis de los helechos y grupos relacionados (Pteridophyta) de la provincia de Córdoba, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 39: 89-114.
- ARANA, M. D. & C. A. BIANCO. 2011. Helechos y licofitas del centro de la Argentina. Editorial UNRC, Río Cuarto. https://www.unrc.edu.ar/unrc/digital/Helechos_y_Licofitas_del_centro_de_la_Argentina.pdf
- ARANA, M. D., J. J. MORRONE, M. PONCE & A. J. OGGERO. 2011. Licofitas (Equisetopsida: Lycopodiidae) de las sierras centrales de Argentina: un enfoque Panbiogeográfico. *Gayana Bot.* 68: 14- 21.
- ARANA, M. D., J. J. MORRONE, M. M. PONCE & A. J. OGGERO. 2013. Patrones biogeográficos de los helechos de las sierras de Córdoba (Argentina) y sus implicancias en la conservación. *Gayana Bot.* 70: 357-376. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432013000200013>
- ARANA, M. D., E. NATALE, A. OGGERO, N. FERRETI, ... & J. J. MORRONE. 2021. Esquema biogeográfico de la República Argentina. *Opera lilloana* 56: 1-240.
- BATEMAN, R. M., W. A. DIMICHELE & D. A. WILLARD. 1992. Experimental cladistic analysis of anatomically preserved arborescent Lycopoids from the Carboniferous of Euramerica: An essay on paleobotanical phylogenetics. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 79: 500-559.

- BERRUETA, P. C., M. L. LUNA, G. E. GIUDICE & M. M. PONCE. 2021. Secrets beneath the soil: recovery of fern spores as a strategy of biodiversity conservation in Punta Lara Nature Reserve (PLNR), Argentina. *Rodriguésia* 72: e00512019.
- DI PASQUO, M., E. RODRÍGUEZ, N. NUÑEZ OTAÑO, N. MUÑOZ & L. SILVESTRI. 2016. Esporas de helechos (monilofitas) y licofitas presentes en el Parque Nacional El Palmar (Entre Ríos, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 51: 1-32.
- DYER, A. F. & S. LINDSAY. 1992. Soil spore banks of temperate ferns. *Amer. Fern J.* 82: 89-123.
- FERREIRA, T. & W. S. RASBAND. 2012. ImageJ User Guide. Version IJ 1.46r. Disponible en: <https://imagej.net/ij/docs/guide/>
- IBARS, A. M. & E. ESTRELLES. 2012. Recent developments in *Ex Situ* and *In Situ* conservation of ferns. *Fern Gaz.* 19: 67-86.
- LELLINGER, D. B. 2002. A modern Multilingual Glossary for taxonomic Pteridology. *Pteridologia* 3: 1-263.
- MACLUF, C. C., M. A. MORBELLI & G. E. GIUDICE. 2006. Microspore Morphology of *Isoetes* (Lycophyta) species from Southern South America. *Bot. Rev.* 72: 121-134.
- MACLUF, C. C., M. A. MORBELLI & G. E. GIUDICE. 2006. Microspore Morphology of *Isoetes* species (Lycophyta) from Southern South America. Part II. TEM analysis of some selected types. *Bot. Rev.* 72: 135-152.
- MACLUF, C. C. 2012. *Análisis morfológico, palinológico y sistemático de las Isoëtales (Lycophyta) en el Cono Sur de América Meridional*. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- MARTÍNEZ, G., M. D. ARANA, A. J. OGGERO & E. S. NATALE. 2017. Biogeographical relationships and new regionalization of high-altitude grasslands and woodlands of the central Pampean ranges (Argentina), based on vascular plants and vertebrates. *Austral. Syst. Bot.* 29: 473-488. <http://dx.doi.org/10.1071/SB16046>
- MORBELLI, M. A. 1977. Esporas de las especies argentinas de *Selaginella* (Selaginellaceae-Pteridophyta). Obra del Centenario del Museo de La Plata Tomo III: 121-150.
- MORBELLI, M. A., J. R. ROWLEY & D. CLAUGHER. 2001. Spore Wall structure in *Selaginella* (Lycophyta) species growing in Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 36: 315-368.
- PAUL, S., K. DIXON & B. MILLER. 2014. The persistence and germination of fern spores in fire-prone, semi-arid environments. *Austral. J. Bot.* 62: 518-527.
- PPG I (The Pteridophyte Phylogeny Group). 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *J. Syst. Evol.* 54: 563-603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- RAMÍREZ-TREJO, M. R., B. PÉREZ-GARCÍA & A. OROZCO-SEGOVIA. 2004. Analysis of fern spore banks from the soil of three vegetation types in the central region of Mexico. *Amer. J. Bot.* 91: 682-688.
- RAMOS GIACOSA, J. P., M. A. MORBELLI, G. E. GIUDICE & D. A. GORRER. 2016. Spore morphology and wall ultrastructure of Lycopodiaceae from northwest Argentina. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 225: 84-94.
- RANAL, M. A. 2003. Soil spore bank of ferns in a gallery forest of the Ecological Station of Panga, Uberlândia, MG, Brazil. *Amer. Fern J.* 93: 97-116.
- RINCON BARÓN, E. J., C. H. ROLLERI & L. PASSARELLI. 2014. Esporogénesis, esporoderma y ornamentación de esporas maduras en Lycopodiaceae. *Rev. Biol. Trop.* 62:1161-1195.
- ROLLERI, C. H. 1971. *Anatomía y morfología de las especies de Lycopodium (Lycopodiaceae: Pteridophyta) del noroeste de Argentina y sus aplicaciones taxonómicas*. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- THIERS, B. 2024. Index Herbariorum: A Global Directory of Public Herbaria and Associated Staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium [online]. Disponible en: <http://sweetgum.nybg.org/ih/> [Acceso: 20 Febrero 2024].
- TRYON, A. F. & B. LUGARDON. 1991. Spores of the Pteridophyta. Surface, Wall structure and diversity based on Electron Microscope Studies. Springer-Verlag, New York.
- WESTSTRAND, S. & P. KORALL. 2016a. Phylogeny of Selaginellaceae: there is value in morphology after all. *Am. J. Bot.* 103: 2136e2159.
- WESTSTRAND, S. & P. KORALL. 2016b. Subgeneric classification of *Selaginella* (Selaginellaceae). *Am. J. Bot.* 103: 2160e2169.
- WIKSTROM, N. & P. KENRICK. 2001. Evolution of Lycopodiaceae (Lycopsidea): Estimating divergence times from rbcL sequences by use of nonparametric rate smoothing. *Mol. Phylogenet. Evol.* 19: 177-186.
- ZHANG, L. B. & X. M. ZHOU. 2022. A new classification of Lycopodiales based on molecular phylogenetics,

- morphology, and spore ornamentation. *Indian Fern J.* 38: 125e136.
- ZHOU, X. M. & L. B. ZHANG. 2015. A classification of *Selaginella* (Selaginellaceae) based on molecular (chloroplast and nuclear), macromorphological, and spore features. *Taxon* 64: 1117e1140. <https://doi.org/10.12705/646.2>
- ZHOU, X. M. & L. B. ZHANG. 2023. Phylogeny, character evolution, and classification of Selaginellaceae (lycophytes). *Plant Divers.* 45: 630e684.



DIVERSIDAD Y DISTRIBUCIÓN DE LOS HELECHOS Y LICÓFITOS DE UN BOSQUE SUBANDINO DEL NORTE DE LOS ANDES

DIVERSITY AND DISTRIBUTION OF FERNS AND LYCOPHYTES FROM A SUB-ANDEAN FOREST IN THE NORTHERN ANDES

José Murillo-A.^{1*} & Luz A. Triana-Moreno²

1. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
2. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

*jcmurilloa@unal.edu.co

Citar este artículo

MURILLO-A., J. & L. A. TRIANA-MORENO. 2024. Diversidad y distribución de los helechos y licófitos de un bosque subandino del norte de los Andes. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 321-334.

DOI: <https://doi.org/110.31055/1851.2372.v59.n3.44728>

Recibido: 11 Abr 2024
Aceptado: 22 Jul 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editora: Agustina Yañez

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: Ferns and lycophytes are highly diverse in Neotropical forests, and their distribution is influenced by various biotic and abiotic factors, including disturbance. This study analyzes the effect of some of these factors on the diversity of these plants in a sub-Andean forest.

M&M: Four transects of 400 m² (80×5 m) were established, two in highly disturbed sites, grassland, and stream edge, and two in the forest. Each transect was divided into 16 plots where all terrestrial and epiphytic individuals were recorded. Clustering analyses were performed to recognize the presence of floristic groups, and a canonical correlation analysis was performed to identify how soil chemistry and vegetation structure affect the composition and diversity of these plants.

Results: A total of 4935 individuals were found, representing 42 species. *Amauropelta rudis* (Kunze) Pic. Serm. (2485 individuals) and *Asplenium flabellulatum* Kunze (1190 individuals) were the dominant terrestrial species. The clustering and ordination analyses revealed that the plots of open sites are more related to each other than to those of the forest. Species of open sites are more correlated with a lower layer of litter, a lower height and coverage of trees or saplings, a higher concentration of aluminum and a lower concentration of sodium.

Conclusions: Ferns and lycophytes are influenced by the environmental, structural and disturbance conditions of the site where they grow.

KEY WORDS

Disturbance, diversity, edaphic factors, multivariate analysis, pteridophytes, richness, structural factors.

RESUMEN

Introducción y objetivos: Los helechos y licófitos son muy diversos en los bosques neotropicales y su distribución está influenciada por diversos factores bióticos y abióticos, incluida la perturbación. En este estudio se analiza el efecto de algunos de estos factores sobre la diversidad de estas plantas en un bosque subandino.

M&M: Se establecieron cuatro transectos de 400 m² (80×5 m), dos en sitios altamente perturbados, pradera y borde de quebrada, y dos en el bosque. Cada transecto se dividió en 16 parcelas donde se registraron todos los individuos terrestres y epífitos. Se realizaron análisis de agrupamiento para reconocer la presencia de grupos florísticos, y un análisis de correlación canónica para identificar cómo la química del suelo y la estructura de la vegetación afectan la composición y diversidad de estas plantas.

Resultados: Se encontraron 4935 individuos que representan 42 especies. *Amauropelta rudis* (Kunze) Pic. Serm. (2485 individuos) y *Asplenium flabellulatum* Kunze (1190 individuos) fueron las especies terrestres dominantes. Los análisis de agrupamiento y ordenación revelaron que las parcelas de sitios abiertos están más relacionadas entre sí que con las del bosque. Las especies de zonas abiertas están más correlacionadas con una menor capa de hojarasca, una menor altura y cobertura de árboles grandes y pequeños, una mayor concentración de aluminio y una menor concentración de sodio.

Conclusiones: Los helechos y licófitos están influenciados por las condiciones ambientales, estructurales y de perturbación del sitio donde crecen.

PALABRAS CLAVE

Análisis multivariado, disturbio, diversidad, factores edáficos, factores estructurales, pteridófitos, riqueza.

INTRODUCCIÓN

En el Neotrópico los helechos y licófitos contribuyen significativamente a la diversidad de la flora vascular, particularmente en las zonas montañosas, donde tienen una alta representación taxonómica (Moran, 1995; Kessler *et al.*, 2011; Acebey *et al.*, 2017). Entre los países de la región, Colombia es reconocido por tener una flora pteridológica altamente diversa. Posee un registro superior a 1600 especies, con la diversidad más alta concentrada en la región Andina (Murillo-A. & Murillo, 2017). La gran heterogeneidad ambiental asociada a las irregularidades del relieve en montañas tropicales se ha sugerido como un factor que determina la alta diversidad de helechos y licófitos. Dichas irregularidades del relieve determinan la existencia de diferentes microclimas y tipos de hábitats, que promueven las migraciones, adaptaciones y especiación (Moran, 1995). Asimismo, se ha reconocido que las perturbaciones influyen tanto en la distribución como en la composición taxonómica de estas plantas (Marini *et al.*, 2011; Carvajal-Hernández *et al.*, 2014, 2017; Carvajal-Hernández & Krömer, 2015; Acebey *et al.*, 2017; Moulatlet *et al.*, 2023)

Resulta interesante estudiar los patrones ecológicos de los helechos y licófitos en hábitats heterogéneos, porque permiten explicar cómo su composición taxonómica y su distribución espacial están influenciadas por factores ambientales específicos. Este tipo de estudios se ha realizado en diversas regiones del Neotrópico y buscan interpretar la diversidad a lo largo de gradientes topográficos (Tuomisto & Poulsen, 2000) y altitudinales (Kessler *et al.*, 2011; Salazar *et al.*, 2015; Carvajal-Hernández *et al.*, 2017; Merino *et al.*, 2023). También se han estudiado las preferencias edáficas (Young & León, 1989; van der Werff, 1992; Ruokolainen *et al.*, 1994; Tuomisto & Poulsen, 1996).

En la Amazonia se ha investigado intensamente cómo la distribución y la composición de los helechos son condicionadas por el tipo de suelo (Young & León, 1989; van der Werff, 1992; Ruokolainen *et al.*, 1994; Tuomisto & Poulsen, 2000; Zuquim *et al.*, 2009, 2012, 2014). Se evidencia que la riqueza aumenta con la especialización edáfica y que el número de especies presentes en un solo tipo de suelo es mayor que el de las especies generalistas. La especialización edáfica en algunos helechos podría

ser utilizada como un indicador de la fertilidad del suelo, ya que existen evidencias de que suelos ricos en nutrientes determinan mayor riqueza específica (Moulatlet *et al.*, 2019). También se ha sugerido que la distribución de los helechos y licófitos se ve afectada por el drenaje (Tuomisto & Poulsen, 2000), y que los helechos podrían ser indicadores de la presencia de otros grupos vegetales (Ruokolainen *et al.*, 1994; Duque *et al.*, 2005).

Estudios similares se han realizado en regiones montañosas de Mesoamérica (Carvajal-Hernández *et al.*, 2014; Carvajal-Hernández & Krömer, 2015; Acebey *et al.*, 2017). En los mismos se demuestra y se resalta la relación entre el grado de perturbación antropogénica y la riqueza.

A lo largo de los Andes se ha evaluado la distribución con respecto a la altitud y a la latitud (Salazar *et al.*, 2015; Riaño & Moulatlet, 2022). Sin embargo, llama la atención la carencia de datos sobre la región más septentrional de los Andes (Salazar *et al.*, 2015), en donde solo se ha explorado preliminarmente el patrón de distribución altitudinal en una región del flanco oriental de la cordillera Oriental de Colombia (Murillo *et al.*, 2002). Esta escasez de conocimiento representa una oportunidad para estudiar cómo algunos factores edáficos y estructurales de la vegetación determinan la distribución y composición de helechos y licófitos en un bosque subandino de Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio se encuentra localizada en la vertiente occidental de la cordillera Oriental, en la vereda Las Marías, municipio de Albán. Se encuentra al occidente del departamento de Cundinamarca, Colombia, aproximadamente en las coordenadas 4° 52' N, 74° 26' W. Tiene una extensión de 70 ha y abarca un rango altitudinal que va de 1900 a 2100 m.s.n.m. La zona cuenta con un relicto de bosque de cerca de 22 ha (Obando, 2003). Esta unidad de vegetación se clasifica como Selva Subandina (Cuatrecasas, 1998; Pinto, 1993), Bosque Húmedo Montano Bajo de acuerdo con el sistema de Holdridge (Espinal & Montenegro, 1963) u Orobioma Medio de los Andes (Galeano, 2016).

El área de estudio cuenta con una temperatura media de 15,4 °C, y está influenciada en gran parte por los

altos niveles de vapor de agua traídos por los vientos provenientes del valle del Magdalena (Caicedo, 1997). Esto provoca una humedad relativa promedio anual del 90% y una evaporación total anual de 668,9 mm. La precipitación media anual es de 1269,5 mm y presenta un régimen climático bimodal. Los valores de precipitación y humedad más altos se presentan entre febrero y abril y de octubre a diciembre; la época más seca corresponde a los meses de julio y agosto (Triana-Moreno & Murillo-A., 2005).

Muestreo

Se realizaron cuatro transectos de 400 m² (80×5 m), dos en sitios abiertos y altamente perturbados como consecuencia de la tala del bosque. El primero, aquí considerado la pradera (PRAD), se ha usado para la ganadería; el segundo, correspondiente a un borde de quebrada (QUEB), no posee uso aparente. En estos sitios hay elementos arbóreos escasos y árboles pequeños o arbustos menores de 3 m de altura. Otros dos transectos se establecieron en el bosque (BOS1, BOS2), donde se observó un menor grado de perturbación y donde el dosel alcanza hasta 20 m de altura. La mayor separación entre transectos (600 m) se presentó entre las parcelas del bosque. Cada transecto se dividió en 16 subparcelas de 25 m² (5×5 m) en donde se registraron todos los individuos terrestres y epífitos. Para ello se siguió la metodología propuesta por Øllgaard & Ståhl (2000) para helechos y licófitos. Para los individuos terrestres se registró la altura, cobertura, ubicación espacial y porcentaje de herbivoría; para los individuos epífitos se midió la altura sobre el suelo. Para caracterizar las parcelas se contó el número de árboles, y se midió la altura y cobertura del dosel. La altura de la capa de hojarasca se midió cada 2,5 m a lo largo de cada parcela, y adicionalmente se estimó su cobertura. Se tomaron muestras de suelo superficial de cada una de las esquinas del transecto y del centro, las muestras se homogeneizaron y se secaron a temperatura ambiente. Los análisis químicos y físicos se realizaron en el Laboratorio de Aguas y Suelos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, de acuerdo con los métodos estandarizados en el laboratorio para cada parámetro químico y físico.

Análisis de datos

La similitud florística entre parcelas fue evaluada con un diagrama de agrupamiento UPGMA, y para

reconocer las relaciones entre parcelas se realizó un análisis de coordenadas principales (COP). En ambos casos se usó la matriz de abundancias y se aplicó el índice de Bray-Curtis.

Para identificar cómo es la estructura de la comunidad en términos de abundancias se elaboraron gráficas semilog (Krebs, 1999), las cuales permitieron determinar el modelo de distribución de las especies que corresponde al lognormal. Con base en este modelo se comparó la diversidad observada con la esperada para cada una de las parcelas. Para determinar el modelo de distribución de las especies se graficaron las más abundantes y el patrón de dispersión se corroboró con el índice estandarizado de Morisita, el cual es uno de los mejores índices por ser independiente de la densidad de la población y del tamaño de la muestra. Se aplicó el método de los cuadrantes contiguos para explicar la variación en la distribución a lo largo del transecto. Este método se basa en analizar el comportamiento y forma de la curva resultante al graficar la varianza, y de las abundancias y el tamaño de bloques de parcelas (Ludwig & Reynolds, 1988; Krebs, 1999).

Para identificar la relación de la composición en cada parcela con las variables ambientales y estructurales, se realizó un Análisis de Correlación Canónica (ACC). Para tal efecto se construyó una matriz con las abundancias de las especies terrestres para cada parcela. Para evitar subestimar el efecto de las especies raras, la matriz se transformó con $\log(x+1)$. La matriz de variables se construyó con los datos de los análisis químicos del suelo (14, Tabla 1) y con los datos estructurales de cada parcela (4, Material suplementario Tabla S1). Esta se estandarizó a media 0 y desviación estándar 1. Todos los análisis se realizaron con el software PAST v4.09 (Hammer *et al.*, 2001).

RESULTADOS

Riqueza de especies y composición

La riqueza específica de helechos y licófitos en los cuatro transectos fue 42 (Tabla 2, y S1). Éstas se distribuyen en 12 familias y 27 géneros. Las familias con mayor riqueza específica son Polypodiaceae (6 géneros, 10 especies) y Pteridaceae (4 géneros, 6 especies), que representan el 33% de la diversidad (Fig. 1). En los transectos del bosque se registró la mayor diversidad, siendo Polypodiaceae la familia

Tabla 1. Composición química del suelo para cada transecto evaluado. Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

	BOS1	BOS2	QUEB	PRAD
Al (meq/100 g)	2,9	0,1	1,4	4,7
pH	3,9	5,7	4,92	3,91
CIC (meq/100 g)	38,7	19,2	20,5	38,5
Na (meq/100 g)	0,36	0,31	0,19	0,27
C %	8,89	2,73	4,78	9,91
N %	0,76	0,23	0,41	0,85
C:N	11,69	11,86	11,65	11,65
P (ppm)	92,4	81,1	8,1	25,8
Ca (meq/100 g)	4,51	8,04	7,89	0,52
Mg (meq/100 g)	0,68	2,5	2,19	0,33
K (meq/100 g)	0,51	0,23	0,38	0,34
Mn (ppm)	22,3	9,81	17,51	8,71
Fe (ppm)	1360	4,38	1097	728
Zn (ppm)	26	6,8	18,8	7,3
Cu (ppm)	1,8	2,1	1,9	1,8

más diversa. En BOS1 se encontraron 7 familias, 14 géneros y 18 especies, mientras que en BOS2 se registraron 8 familias, 16 géneros y 21 especies. En los sitios abiertos y altamente perturbados la diversidad disminuyó a 9 familias, 16 géneros y 19 especies. La familia más rica en PRAD fue Polypodiaceae con 3 géneros e igual número de especies. En QUEB Polypodiaceae y Pteridaceae fueron las más diversas, con 3 géneros y 3 especies en cada una.

Densidad

El número total de individuos en los cuatro transectos fue de 4935 (Tablas 3, S2). El transecto con más individuos fue QUEB (2336) seguido por las parcelas del bosque (BOS1, 742; BOS2, 1169), y la que tuvo menor número de individuos fue PRAD (688).

Los ambientes muestreados presentaron baja dominancia específica (Tabla 2). Dentro de las especies terrestres, *Amauropelta rudis* con 2485 individuos y *Asplenium flabellulatum* con 1190

individuos fueron las especies más abundantes en sitios abiertos y en el bosque, respectivamente. La diversidad de epífitas es alta: se encontraron 20 especies, siendo la más abundante *Asplenium theciferum*.

Similitud florística

El análisis de agrupamiento de UPGMA (Fig. 2) y el de COP (Fig. 3) mostraron que, de acuerdo con la composición florística, las parcelas forman dos grupos, que representan el grado de alteración ambiental. En el primero están las parcelas con un dosel arbóreo (BOS1 y BOS2) y en el segundo están las de sitios abiertos (QUEB y PRAD). El alto coeficiente de correlación cofenética (0,9603) en el análisis con UPGMA indica una baja distorsión, es decir una buena correspondencia entre la matriz original y el agrupamiento. En COP las parcelas de sitios abiertos están asociadas al eje 1 (Eigenvalue= 10,099, 42,02%), mientras, que las del bosque aparecen a la derecha del gráfico, con una disposición conglomerada y asociadas al segundo eje (Eigenvalue= 3,485, 14,5%).

Diversidad

Las relaciones entre las abundancias y el número de especies terrestres para cada una de las parcelas siguen un modelo de distribución lognormal (Fig. 4). Es decir que en pocas especies se concentra la mayor cantidad de individuos. De acuerdo con este modelo, el número esperado de especies es similar al observado para las parcelas del bosque y para PRAD (Tabla 4). No obstante, para QUEB la diversidad esperada es mucho mayor a la encontrada.

Distribución espacial

El mapeo de la distribución espacial de los individuos pertenecientes a las especies más abundantes permitió reconocer que *Amauropelta rudis*, en los sitios abiertos, y *Asplenium flabellulatum*, en el bosque, presentan una distribución agrupada (Fig. 5). Esto puede ser corroborado con los valores del índice estandarizado de Morisita I_p ($p= 0,05$) (Tabla S3).

El método de cuadrantes contiguos permitió corroborar el modelo agregado de las especies y a su vez explicar la variación en la distribución a lo largo del transecto (Fig. 6). *Asplenium flabellulatum* se presenta en grupos cada 5 a 20 m (Fig. 6A) en BOS1 y de 5 a 35 m en BOS2

Tabla 2. Composición y abundancia de especies por transecto y parcela. Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera; T: terrestre; E: epífita; R: rupícola).

Familia	Especie	Hábito	BOS1	BOS2	QUEB	PRAD
Aspleniaceae	<i>Asplenium pteropus</i>	T	63	0	0	0
Aspleniaceae	<i>Asplenium flabellulatum</i>	T, E	487	703	0	0
Aspleniaceae	<i>Asplenium praemorsum</i>	E	0	10	1	17
Aspleniaceae	<i>Asplenium theciferum</i>	E	26	232	0	67
Blechnaceae	<i>Austroblechnum lherminieri</i>	T	15	0	0	0
Blechnaceae	<i>Blechnum occidentale</i>	T, R	21	41	160	38
Cyatheaceae	<i>Alsophila erinacea</i>	T	42	7	0	0
Cyatheaceae	<i>Cyathea multiflora</i>	T	7	0	0	0
Dennstaedtiaceae	<i>Dennstaedtia arborescens</i>	T	0	11	0	0
Dennstaedtiaceae	<i>Dennstaedtia cicutaria</i>	T	0	15	0	0
Dennstaedtiaceae	<i>Mucura globulifera</i>	T	0	6	0	0
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum</i> aff. <i>glabellum</i>	E	0	0	1	0
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum hirtum</i>	E	0	2	0	0
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum</i> aff. <i>muscosum</i>	E	5	0	0	0
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum</i> sp.1	E	1	0	0	0
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum</i> sp.2	E	1	0	4	0
Dryopteridaceae	<i>Megalastrum andicola</i>	T	0	5	0	0
Dryopteridaceae	<i>Polystichum platyphyllum</i>	T	0	11	0	0
Equisetaceae	<i>Equisetum bogotense</i>	T	0	0	26	3
Hymenophyllaceae	<i>Hymenophyllum</i> aff. <i>myriocarpum</i>	E	0	1	0	0
Hymenophyllaceae	<i>Trichomanes reptans</i>	E	0	2	0	0
Lycopodiaceae	<i>Phlegmariurus hartwegianus</i>	E	0	0	0	2
Polypodiaceae	<i>Campyloneurum angustifolium</i>	E	0	0	0	12
Polypodiaceae	<i>Melpomene flabelliformis</i>	E	0	2	0	0
Polypodiaceae	<i>Melpomene xiphopteroides</i>	E	1	0	0	0
Polypodiaceae	<i>Microgramma percussa</i>	E	7	88	1	0
Polypodiaceae	<i>Pecluma divaricata</i>	E	5	5	0	0
Polypodiaceae	<i>Pleopeltis buchtienii</i>	E	0	0	1	0
Polypodiaceae	<i>Pleopeltis macrocarpa</i>	E	16	18	0	6
Polypodiaceae	<i>Serpocaulon adnatum</i>	T	0	6	0	0
Polypodiaceae	<i>Serpocaulon fraxinifolium</i>	E	5	0	1	0
Polypodiaceae	<i>Serpocaulon lasiopus</i>	E	0	0	0	1
Pteridaceae	<i>Adiantum concinnum</i>	T	0	0	2	0
Pteridaceae	<i>Pityrogramma ebenea</i>	T	0	0	76	0
Pteridaceae	<i>Pteris deflexa</i>	T	0	1	0	0
Pteridaceae	<i>Pteris muricata</i>	T	38	1	0	0
Pteridaceae	<i>Pteris podophylla</i>	T	0	2	6	0
Pteridaceae	<i>Vittaria graminifolia</i>	E	1	0	0	0
Selaginellaceae	<i>Selaginella</i> sp.	T	0	0	89	0
Thelypteridaceae	<i>Amauropelta linkiana</i>	T	1	0	0	0
Thelypteridaceae	<i>Amauropelta rudis</i>	T	0	0	1949	536
Thelypteridaceae	<i>Macrothelypteris torresiana</i>	T	0	0	19	6

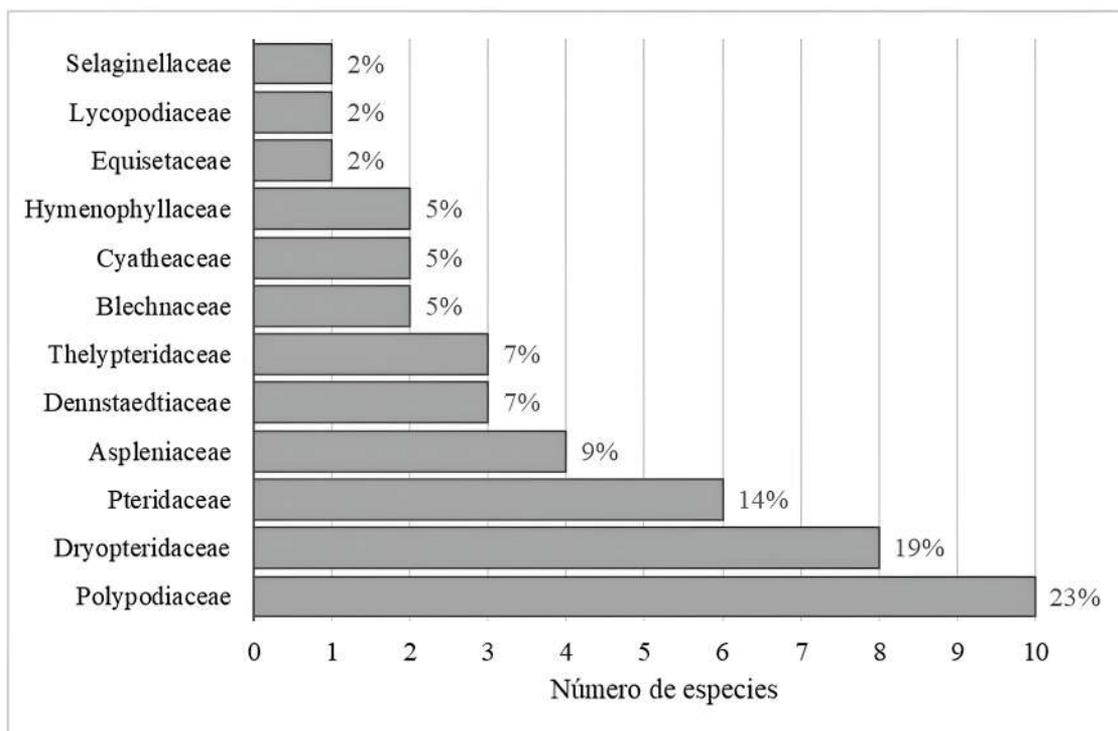


Fig. 1. Composición total de especies en bosque y sitios abiertos.

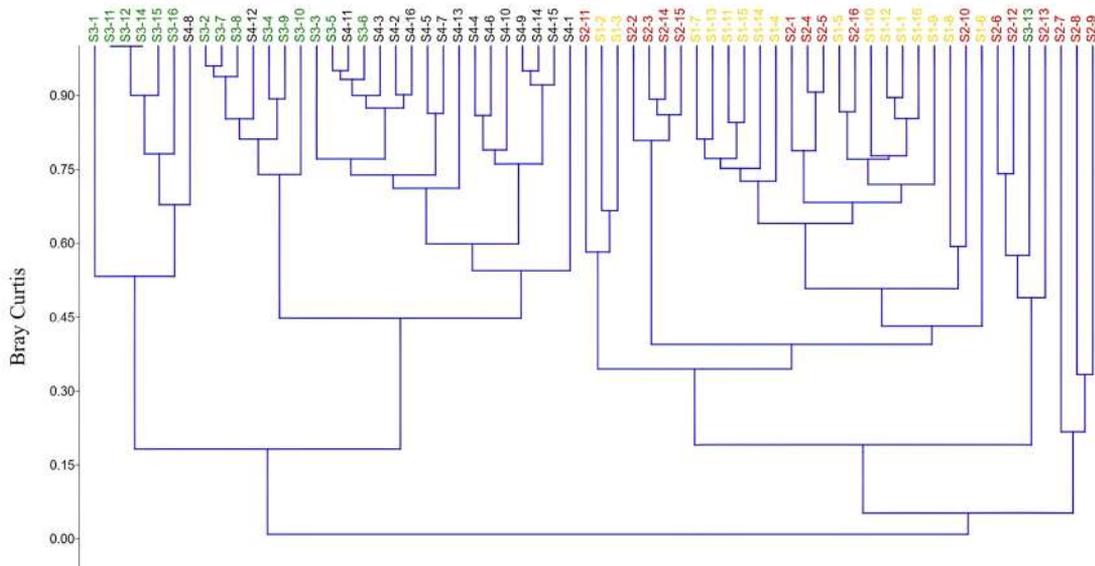


Fig. 2. Dendrograma obtenido por un análisis de agrupamiento UPGMA. Se muestran dos grupos, en uno aparecen las parcelas del bosque (BOS1, S1 1-16, amarillos, BOS2, S2 2-16, rojos) y en el otro las parcelas de sitios abiertos (QUEB, S3 1-16, verdes; PRAD, S4 1-16, negros). Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

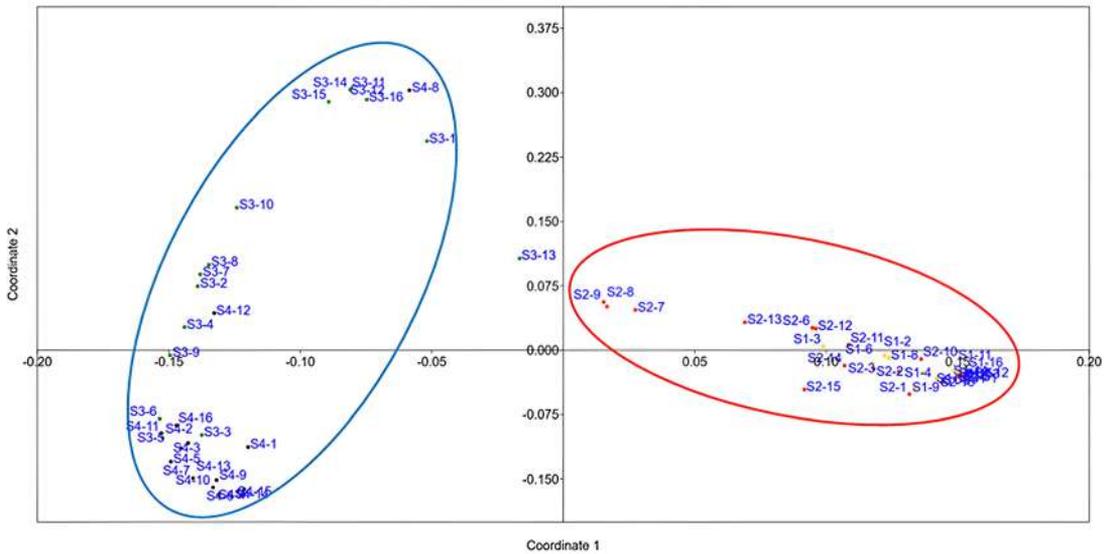


Fig. 3. Análisis de coordenadas principales. Se muestran dos agrupamientos, a la izquierda las parcelas de sitios abiertos (QUEB, PRAD, elipse azul) y a la derecha las parcelas del bosque (BOS1 y BOS2, elipse roja). Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

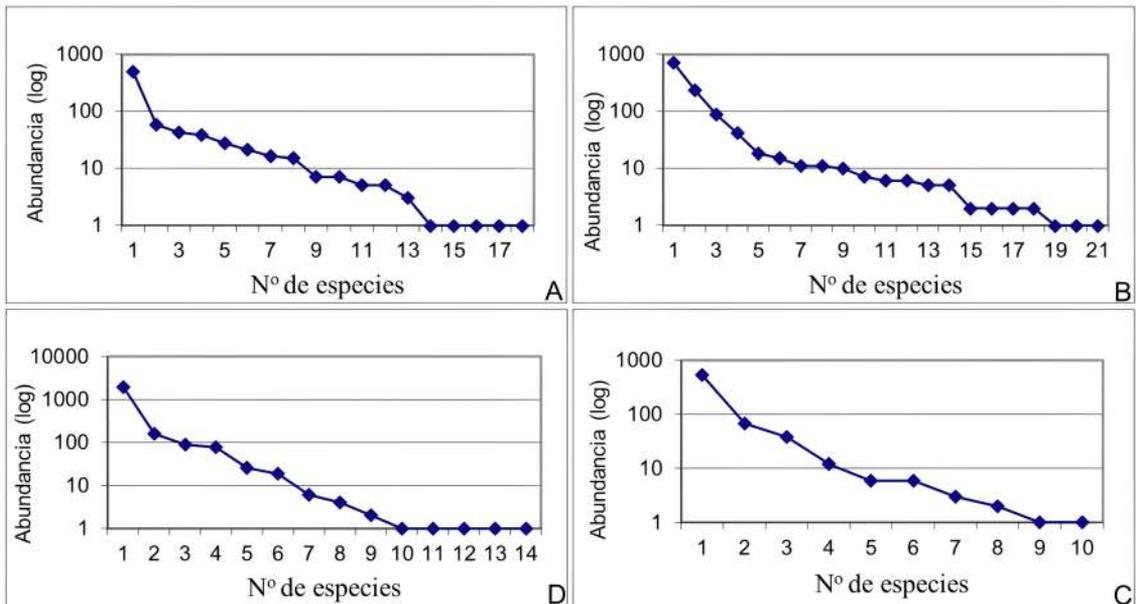


Fig. 4. Diversidad de especies de acuerdo con el modelo Lognormal. A: BOS1. B: BOS2. C: QUEB. D: PRAD. Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

Tabla 3. Número de individuos y de especies por transecto. Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

Parcela	Total de especies	Epífitas	Terrestres	Número de individuos
BOS1	18	11	8	742
BOS2	21	9	12	1169
QUEB	14	6	8	2336
PRAD	10	6	4	688

Tabla 4. Número esperado de especies siguiendo el modelo Lognormal. Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

Parcela	Especies observadas	Especies esperadas
BOS1	18	21,97
BOS2	21	25,57
QUEB	14	52,88
PRAD	10	14,67

(Fig. 6B). Una distribución similar se presenta en *A. rudis* (5 a 20 m) para QUEB (Fig. 6C). Sin embargo, en PRAD la parcela no fue lo suficientemente grande como para determinar la distancia entre los grupos (Fig. 6D).

Ordenación

El valor propio en el ACC para el primer eje es de 0,82 (56,11%), para el segundo es 0,311 (21,33%) y para el tercero 0,116 (7,99%) (Fig. 7). La varianza explicada en estos tres ejes es de 85,43%. Estos tres primeros ejes son significativos en cuanto a su correlación con las variables estudiadas, según la prueba de permutación sin restricciones de Monte Carlo (P<0,001).

De los parámetros químicos solo el pH y la concentración de aluminio (Al) y sodio (Na) no presentaron multicolinealidad o varianza insignificante, por lo cual solo estos se incluyeron en el análisis. Las parcelas del bosque se separan a la derecha y se asocian al eje 2. A la izquierda las parcelas de sitios abiertos, PRAD y QUEB, se asocian al eje 1. Las variables con mayor correlación en el eje 1 son altura máxima de árboles o árboles pequeños (0,829), concentración de Na (-0,82), y porcentaje de cobertura del dosel (0,761). En el eje 2 las de mayor correlación son pH (0,613), profundidad de la capa de hojarasca (-0,599), y concentración de Al (0,597).

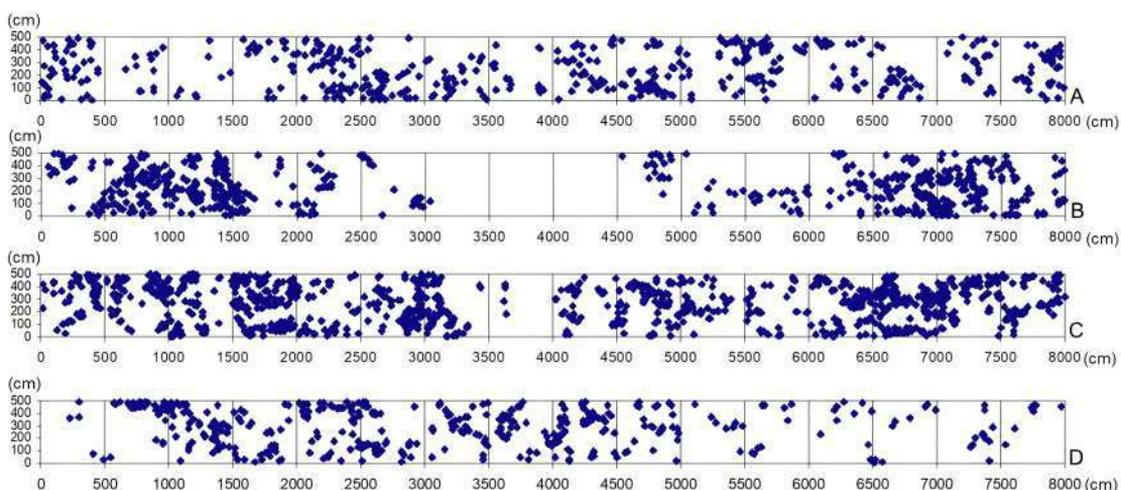


Fig. 5. Distribución espacial de las especies terrestres más importantes en Albán. *Asplenium flabellulatum*: A: BOS1 y B: BOS2. *Amauropelta rudis*: C: QUEB. D: PRAD. Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

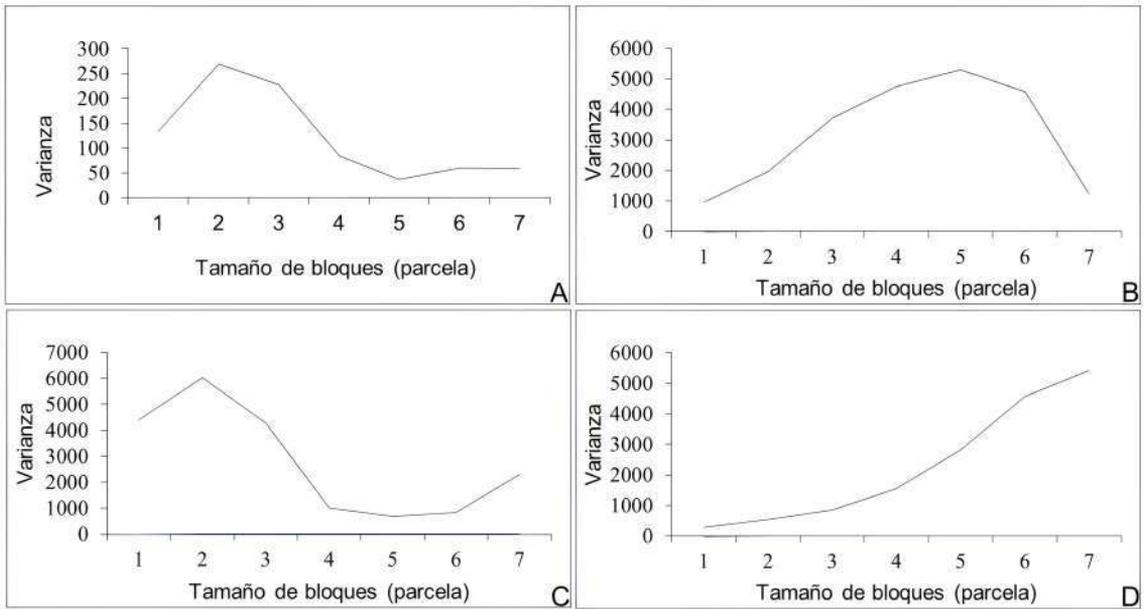


Fig. 6. Distribución de individuos según el método de cuadrantes contiguos. *Asplenium flabellulatum*: A: BOS1 y B: BOS2. *Amauropelta rudis*: C: QUEB y D: PRAD. Abreviaturas = BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

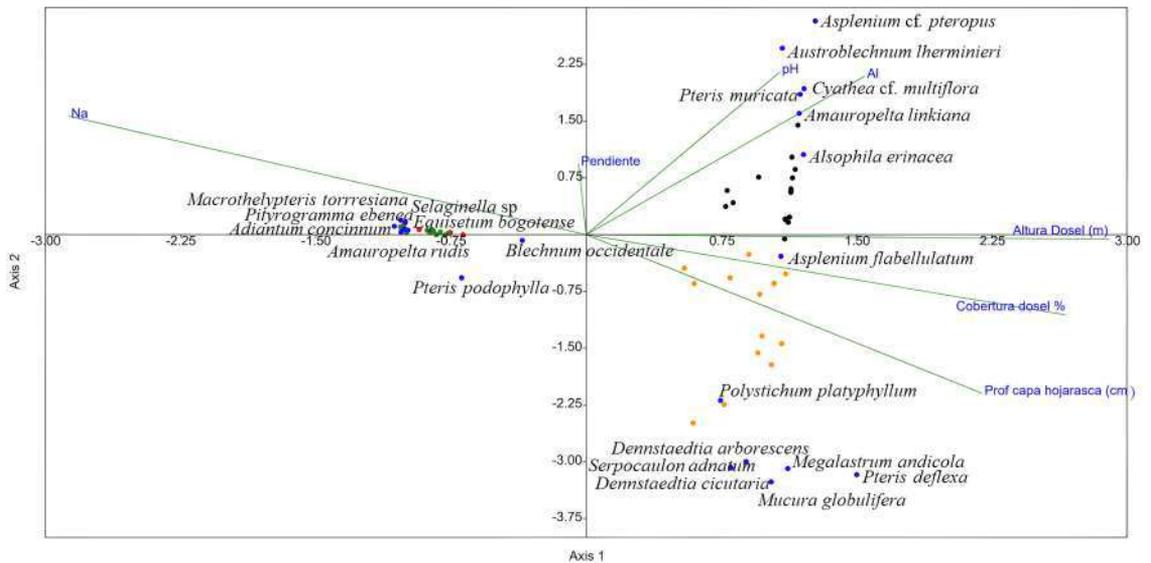


Fig. 7. Análisis de Correlación Canónica para sitios abiertos (PRAD, puntos rojos; QUEB, puntos verdes) y los sitios con bosque (BOS1, puntos negros y BOS2, naranja). Abreviaturas= BOS1: bosque 1; BOS2: bosque 2; QUEB: borde de quebrada; PRAD: pradera.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este estudio registramos 42 especies de helechos y licófitos en un área de 0,16 ha. Según el modelo de distribución lognormal (Fig. 4), el número esperado de especies es relativamente similar al observado para las parcelas del bosque y para PRAD (Tabla 2). Sin embargo, para QUEB la diversidad esperada es más de tres veces la encontrada. Esto plantea la necesidad de ampliar el transecto para cubrir la variabilidad del terreno en cuanto a pendiente, drenaje y suelo. Estos factores determinan un mayor número de sitios para el crecimiento de helechos y licófitos. Un aumento de tamaño de la parcela para este último sitio posiblemente incrementaría el número de taxones, permitiendo considerar al municipio de Albán una zona muy diversa en comparación con otras regiones como la Amazonia. En esta última se han registrado 50 y 61 especies en 1 y 2 ha respectivamente (Young & León, 1989; Poulsen & Nielsen, 1995). No obstante, la diversidad hallada en este trabajo es baja en comparación a las 21 especies por ha registradas en un bosque de Costa Rica (Whitmore *et al.*, 1985).

La evaluación de la distribución espacial de las especies más frecuentes en los transectos de bosque (*Asplenium flabellulatum*) y en sitios abiertos (*Amauropelta rudis*), permitió establecer que estas especies se distribuyen en forma agrupada. Similares resultados fueron encontrados para especies amazónicas por Richard *et al.* (2000), quienes relacionaron esta distribución con la fertilidad, la humedad, y el pH del suelo. Debido a que no tenemos datos de estos valores para cada parcela del transecto no se puede concluir si estos mismos factores están afectando la distribución espacial de las especies en el bosque subandino. Sin embargo, se pudo evidenciar que hay variaciones en la cobertura de rocas, capa de hojarasca, drenaje, altura y cobertura del dosel y pendiente. Algunas de estas variables fueron fuertemente correlacionadas con la diversidad de especies en los ambientes abiertos y del bosque (Fig. 7). Tampoco se puede ignorar la competencia o asociación entre especies (Richard *et al.*, 2000) como factores influyentes en la distribución espacial.

Adicionalmente, la forma de reproducción podría estar influyendo en la distribución de estas plantas. Muchas de las esporas podrían caer en cercanías de la planta madre y por tanto desarrollar

nuevos individuos que finalmente crecen agregados (Richard *et al.*, 2000), lo que podría estar ocurriendo con *Amauropelta rudis*. En el caso de *Asplenium flabellulatum*, la presencia de una yema prolífica en el ápice flageliforme de la lámina determina que nuevas plantas crezcan cerca de la planta madre. Estas características permiten concluir que hay otros elementos que podrían estar influenciando la distribución espacial de las especies.

En los helechos y licófitos en Albán se reconocen dos grupos. Uno de ellos está constituido por las especies de sitios abiertos (PRAD, QUEB) como *Amauropelta rudis*, *Equisetum bogotense*, *Macrothelypteris torresiana* y *Pityrogramma ebenea*, entre otras, y en un segundo grupo se encuentran las que crecen hacia el interior del bosque, como *Asplenium flabellulatum*, *Alsophila erinacea* y *Trichomanes reptans*. La distribución de las especies en una comunidad puede ser explicada por eventos estocásticos, en lo que se conoce como un ensamblaje de dispersión, o por el efecto de los factores ambientales sobre las especies, denominado ensamblaje de nicho (Hubbell, 2001; Jones *et al.*, 2006; Nóbrega *et al.*, 2011). En el ensamblaje de dispersión una comunidad local dependerá más de la tasa de inmigración desde las comunidades que la rodean, y por tanto la similitud disminuye con la distancia (Jones *et al.*, 2006). El bajo índice de similitud encontrado entre los dos grupos de especies de este estudio (Fig. 2) y la cercanía entre los transectos no permiten concluir que en el bosque de Albán se presente un ensamblaje de este tipo. Por el contrario, los resultados del análisis de ACC permiten sugerir que las diferencias entre los dos grupos están dadas por otros factores, entre los que se podrían incluir ambientales y de la estructura de la vegetación. Por tanto, la comunidad estaría afectada por factores determinísticos, es decir, presentan un ensamblaje de nicho (Hubbell, 2001). Recientemente, Loke & Chisholm (2023) propusieron que las especies de una comunidad local pueden estar influenciadas tanto por factores determinísticos como estocásticos. Para identificar si esto ocurre en Albán, son necesarios estudios adicionales. No obstante, en la evaluación de la distancia, Jones *et al.* (2006) no encontraron un buen soporte para reconocer ensamblaje de dispersión en comunidades de helechos amazónicos.

En este estudio se determinó que la diversidad de especies en zonas abiertas es menor que en bosques y que la composición también es diferente. Por tanto,

el grado de perturbación ambiental es un factor que determina la diversidad y composición (Köster *et al.*, 2009; Bulafu *et al.*, 2022), y que las especies podrían ser exclusivas de cada ambiente, salvo por las que son generalistas, como *Blechnum occidentale*. Esto sugiere que puede haber un desplazamiento de las especies poco tolerantes y las cuales pueden ser reemplazadas por especies más tolerantes a los efectos negativos en los sitios alterados (Sharpe & Mehltreter, 2010). Por lo tanto, el efecto antropogénico también está afectando la distribución de estos grupos vegetales, y se hace necesario incluir en las políticas de manejo y conservación a los helechos y licófitos. Hasta ahora, estos han pasado desapercibidos en todos los planes de manejo de los bosques andinos y subandinos, donde se concentra la mayor diversidad de estas plantas en el país (Murillo-A. & Murillo, 2017).

La composición y distribución de los helechos y licófitos en la zona subandina también está afectada por las condiciones ambientales y por la heterogeneidad de los sitios en los que crecen. Se han registrado resultados semejantes en varios lugares y tipos de bosques del neotrópico como Brasil (Nóbrega *et al.*, 2011; Carmes *et al.*, 2019), México (Rodríguez *et al.*, 2008), Costa Rica (Jones *et al.*, 2006), Ecuador y Perú (Tuomisto & Poulsen, 1996, 2000).

Para los cuatro sitios muestreados en este estudio, la relación carbono:nitrógeno (C:N) se encuentra entre 11.65 y 11.86 (Tabla 1), indicando una buena fertilidad del suelo (Lwanga *et al.*, 1998; Richardson & Walker, 2010). Este parámetro, junto con el alto contenido de intercambio catiónico (CIC) (19,2-38,7 meq/100 g), sugieren que en Albán la fertilidad del suelo no es el factor que esté afectando la composición y diversidad de helechos y licófitos, contrariamente a lo encontrado en la Amazonia (Tuomisto & Poulsen, 1996) o en Uganda (Lwanga *et al.*, 1998), donde la mayor diversidad de helechos está correlacionada con suelos ricos en nutrientes. A partir de estos resultados, Tuomisto & Poulsen (1996) propusieron que estas plantas podrían ser indicadoras de la fertilidad de los suelos amazónicos. Estudios adicionales sobre la fertilidad del suelo en la zona Andina son necesarios para indagar cómo se afecta la diversidad y composición de estas plantas en este tipo de bosques.

El análisis de algunos elementos químicos mostró que éstos podrían explicar la distribución de estos grupos (Fig. 7). No obstante, debido a que la mayoría de las variables químicas del suelo

estuvieron correlacionadas, no es fácil concluir cuál o cuáles podrían estar afectando la diversidad y composición de las especies. En este sentido, en las parcelas de sitios abiertos hay mayor concentración de Al (1,4-4,7 meq/100 g) y menor concentración de Na (0,19-0,27 meq/100 g), mientras que en las parcelas del bosque hay menor concentración de Al (0,1-2,9 meq/100 g) y mayor concentración de Na (0,31-0,36 meq/100 g). Los nutrientes del suelo mencionados también han ayudado a explicar la diversidad de estos grupos vegetales en la Amazonia (Tuomisto *et al.*, 2014) y México (Sánchez-González *et al.*, 2016).

En cuanto a las variables estructurales, la altura máxima de árboles grandes y pequeños y la cobertura del dosel son los principales factores que afectan el establecimiento de los helechos y licófitos en Albán (Fig. 7). Dependiendo de la altura de los árboles y de la sombra que puedan generar, la cantidad de luz y la humedad varían, y por tanto la composición de especies, en particular de los helechos y licófitos, los cuales necesitan humedad alta (Hietz, 2010). En sitios con árboles de baja altura y poca cobertura hay mayor intensidad solar y por consiguiente mayor temperatura y menor humedad ambiental (Paciência & Prado, 2005). Allí pueden crecer especies tolerantes a estas condiciones como *Amauropelta rudis*, *Macrothelypteris torresiana* y *Pityrogramma ebenea*, las cuales están ampliamente distribuidas en zonas abiertas, y en Albán son muy frecuentes en estos ambientes alterados. Lo anterior contrasta con el caso de *Asplenium flabellulatum*, una especie muy frecuente que se encuentra al interior del bosque, donde hay mayor humedad ambiental. Lo anterior sugiere respuestas diferenciales de los helechos al disturbio, siendo positiva para algunas especies y negativa para otras (Jones *et al.*, 2006).

La capa de hojarasca es otro factor que afecta el establecimiento de los helechos terrestres. En los sitios abiertos una capa delgada de hojarasca (0-3 cm, 0,55 cm en promedio) favorece el establecimiento de los helechos, mientras que, en el bosque, a pesar de haber una capa de hojarasca más gruesa (0,5-14 cm, 5,43 cm en promedio), se puede encontrar abundancia y diversidad alta de helechos terrestres. Esto podría ser favorecido por una mayor cantidad de materia orgánica que estaría abasteciendo nutricionalmente a estas plantas (Richardson & Walker, 2010).

En este estudio se encontró que algunos elementos químicos del suelo como el Al y el Na podrían estar afectando la distribución de los helechos terrestres (Fig. 7). La fertilidad del suelo no es la principal causa de la variación en la composición y distribución de estas plantas en los transectos evaluados. No obstante, se observó una correlación alta entre variables estructurales como la altura y cobertura del dosel y la composición de especies, lo que sugiere en gran medida que el disturbio afecta la diversidad de los helechos y licófitos en el bosque subandino de Albán. Nuestros resultados sobre el número de especies observadas y esperadas son muy similares para los transectos del Bosque y de PRAD, lo que sugiere que se estimó de forma representativa la variación en la composición y distribución para cada transecto, indicando alta robustez en los resultados. Para QUEB el incremento en la longitud del transecto permitirá confirmar los resultados con mayor seguridad en este ambiente.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

JMA diseñó la investigación y realizó el análisis de datos, JMA y LATM llevaron a cabo el trabajo de campo, la determinación de especímenes, la discusión de resultados y la escritura del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Dirección de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. María Cristina Ardila, Germán Amat, Santiago Schmidt, Andrea León y Carolina Polanía nos acompañaron al campo. Agradecemos a dos evaluadores anónimos y a Agustina Yáñez por los comentarios al manuscrito, los cuales permitieron mejorarlo.

BIBLIOGRAFÍA

- ACEBEY, A. R., J. C. LÓPEZ-ACOSTA, J. D. TEJERO-DÍEZ & T. KRÖMER. 2017. Riqueza y composición de helechos y licófitos en tres áreas de bosque mesófilo en Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Rev. Mex. Biodivers.* 88: 625-635. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.07.009>
- BULAFU, C., P. MUCUNGUZI & P. ZIRIBAGWA. 2022. Species richness and distribution of terrestrial ferns in tropical forest fragments in and around Kampala central, Uganda. *Afr. J. Ecol.* 60: 702-713. <https://doi.org/10.1111/aje.12987>
- CAICEDO, R., I. H. 1997. *Esquema de ordenamiento territorial del municipio de Albán – Cundinamarca 2000/2009*. Secretaría de Planeación, Gobernación de Cundinamarca, Bogotá.
- CARMES, A. A., M. S. DECHOUM & P. FIASCH. 2019. The predominant role of soil in determining species composition of fern communities in subtropical coastal forest ecosystems. *Neotrop. Biol. Conserv.* 14: 559-575. <https://doi.org/10.3897/neotropical.14.e49028>
- CARVAJAL-HERNÁNDEZ, C. I. & T. KRÖMER. 2015. Riqueza y distribución de helechos y licófitos en el gradiente altitudinal del Cofre de Perote, centro de Veracruz, México. *Bot. Sci.* 93: 601-614. <https://doi.org/10.17129/botsci.165>
- CARVAJAL-HERNÁNDEZ, C. I., T. KRÖMER & M. VÁZQUEZ-TORRES. 2014. Riqueza y composición florística de pteridobiontes en bosque mesófilo de montaña y ambientes asociados en el centro de Veracruz, México. *Rev. Mex. Biodivers.* 85: 491-501. <https://doi.org/10.7550/rmb.41292>
- CARVAJAL-HERNÁNDEZ, C. I., T. KRÖMER, J. C. LÓPEZ-ACOSTA, J. A. GÓMEZ-DÍAZ & M. KESSLER. 2017. Conservation value of disturbed and secondary forests for ferns and lycophytes along an elevational gradient in Mexico. *Appl. Veg. Sci.* 20: 662-672. <https://doi.org/10.1111/avsc.12318>
- CUATRECASAS, J. 1958. Aspectos de la vegetación natural en Colombia. *Revista Acad. Colomb. Ci. Exact.* 10: 221-264.
- DUQUE, A. J., J. F. DUIVENVOORDEN, J. CAVELIER, M. SÁNCHEZ, C. POLANÍA, & A. LEÓN. 2005. Ferns and Melastomataceae as indicators of vascular plant composition in rain forests of Colombian Amazonia. *Pl. Ecol.* 178: 1-13.
- ESPINAL, S. & E. MONTENEGRO. 1963. *Formaciones vegetales de Colombia*. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá.
- GALEANO, G. 2016. Vegetación natural de Colombia. En: BERNAL, R., S. R. GRADSTEIN & M. CELIS (eds.). *Catálogo de plantas y líquenes de Colombia*, Vol. 1: 71-113. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- HAMMER, Ø., D. A. T. HARPER & P. D. RYAN. 2001. PAST: Paleontological statistics software

- package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4: 1-9.
- HIETZ, P. 2010. Fern adaptations to xeric environments. En: MEHLTRETER, K., L. R. WALKER & J. SHARPE (eds.), *Fern Ecology*. pp. 140-176. University Press, Cambridge.
- HUBBELL, S. P. 2001. The Unified Theory of Biodiversity and Biogeography. *Monographs in Population Biology* 32. Princeton University Press, Princeton.
- JONES, M. M., H. TUOMISTO, D. B. CLARK & P. OLIVAS. 2006. Effects of mesoscale environmental heterogeneity and dispersal limitation on floristic variation in rain forest ferns. *J. Ecol.* 94: 181-195. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01071.x>
- KESSLER, M., J. KLUGE, A. HEMP & R. OHLEMÜLLER. 2011. A global comparative analysis of elevational species richness patterns of ferns. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 20: 868-880. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00653.x>
- KREBS, C. J. 1999. *Ecological methodology*. 2ª ed. Benjamin Cummings, Menlo Park.
- KÖSTER, N., K. FRIEDRICH, J. NIEDER & W. BARTHLOTT. 2009. Conservation of epiphyte diversity in an Andean landscape transformed by human land use. *Conserv. Biol.* 23: 911-919. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01164.x>
- LOKE, L. & R. A. CHISHOLM. 2023. Unveiling the transition from niche to dispersal assembly in ecology. *Nature* 618: 537-542. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06161-x>
- LUDWIG, J. A., & J. F. REYNOLDS. 1988. *Statistical ecology: a primer in methods and computing*. Vol. 1. John Wiley & Sons, Nueva York.
- LWANGA J. S., A. BALMFORD & R. BADAZA. 1998. Assessing fern diversity: relative species richness and its environmental correlates in Uganda. *Biodivers. Conserv.* 7: 1387-1398. <https://doi.org/10.1023/A:1008865518378>
- MARINI, L., E. BONA, W. E. KUNIN, & K. J. GASTON. 2011. Exploring anthropogenic and natural processes shaping fern species richness along elevational gradients. *J. Biogeogr.* 38: 78-88. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02376.x>
- MERINO, G., S. RAMÍREZ-BARAHONA, M. E. OLSON, J. NÚÑEZ-FARFÁN, F. GARCÍA-OLIVA & L. E. EGUIARTE. 2023. Distribution and morphological variation of tree ferns (Cyatheaceae) along an elevation gradient. *Plos one* 18: e0291945. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291945>
- MOULATLET, G., G. ZUQUIM & H. TUOMISTO. 2019. The role of soils for pteridophyte distribution in tropical american forests. *Fern Gaz.* 21: 1-20.
- MOULATLET, G. M., K. RIAÑO, F. R. RODRIGUES, P. MENESES, & G. ZUQUIM. 2023. Diversity and composition of ferns and lycophytes in a fragmented landscape in Ecuadorian Amazonia. *Rodriguésia* 74: e00592023. <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202374069>
- MORAN, R. C. 1995. The importance of mountains to pteridophytes, with emphasis on neotropical montane forests. En: CHURCHILL, S. P. (ed.), *Biodiversity and Conservation of Neotropical Montane Forest*, pp. 359-363. The New York Botanical Garden, Nueva York.
- MURILLO-A., J. & M. T. MURILLO. 2017. Diversidad de los helechos y licófitos de Colombia. *Acta Bot. Malacit.* 42: 23-32. <https://doi.org/10.24310/abm.v42i1.2654>
- MURILLO-A., J., A. LEÓN & C. POLANÍA. 2002. Efecto del gradiente altitudinal en la distribución de los pteridófitos del Guavio Cundinamarca (Colombia). En: RANGEL-CH., J. O., J. AGUIRRE-C. & M. G. ANDRADE-C. (eds.), *Libro de resúmenes Octavo Congreso Latinoamericano y Segundo Colombiano de Botánica*, p. 340. Unibiblos, Bogotá.
- NÓBREGA, G. A., P. V. EISENLOHR, M. L. B. PACIÊNCIA, J. PRADO & M. P. M. AIDAR. 2011. A composição florística e a diversidade de pteridófitas diferem entre a floresta de restinga e a floresta ombrófila densa das terras baixas do núcleo Picinguaba/PESM, Ubatuba/SP. *Biota Neotrop.* 11: 153-164. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032011000200015>
- OBANDO P., S. H. 2003. *Frutos y semillas de un bosque subandino en Cundinamarca, Colombia*. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- ØLLGAARD, B. & B. STÅHL. 2000. Inventario botánico. En: DIVA (eds.), *Oyacachi – La gente y la biodiversidad*, pp. 70-73. Centro para la Investigación de la Diversidad Cultural y Biológica de los Bosques Pluviales Andinos (DIVA), Editorial Abya Yala, Quito. https://digitalrepository.unm.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1234&context=abya_yala
- PACIÊNCIA, M. L. B. & J. PRADO. 2005. Effects of forest fragmentation on pteridophyte diversity in a tropical rainforest in Brazil. *Plant Ecol.* 180: 87-104. <https://doi.org/10.1007/s11258-005-3025-x>
- PINTO E., P. 1993. *Vegetación y flora de Colombia*. 1ª ed. Fundación Segunda Expedición Botánica, Fondo Nacional Universitario, Bogotá.

- POULSEN, A. D. & H. I. NIELSEN. 1995. How many ferns are there in one hectare of tropical rain forest? *Am. Fern J.* 85: 29-35.
<https://doi.org/10.2307/1547678>
- RIAÑO, K. & G. M. MOULATLET. 2022. Floristic and functional diversity of ferns and lycophytes at three elevational zones in the eastern slopes of the northern Andes, Ecuador. *Acta Amazon.* 52: 149-157. <https://doi.org/10.1590/1809-439220210223>
- RICHARD, M., T. BERNHARDT & G. BELL. 2000. Environmental heterogeneity and the spatial structure of fern species diversity in one hectare of old-growth forest. *Ecography* 23: 231-245.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2000.tb00279.x>
- RICHARDSON, S. J. & L. R. WALKER. 2010. Nutrient ecology of ferns. En: MEHLTRETER, K., L. R. WALKER & J. SHARPE (eds.), *Fern Ecology*. pp. 111-139. University Press, Cambridge.
- RODRÍGUEZ, L., L. PACHECO & J. ZAVALA. 2008. Pteridofitas indicadoras de alteración ambiental en el bosque templado de San Jerónimo Amanalco, Texcoco, México. *Rev. Biol. Trop.* 56: 641-656.
<https://doi.org/10.15517/rbt.v56i2.5614>
- RUOKOLAINEN, K., H. TUOMISTO, R. RÍOS, A. TORRES & M. GARCÍA. 1994. Comparación florística de doce parcelas en bosque de tierra firme en la Amazonia peruana. *Acta Amazon.* 24: 31-48.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, A., E. ÁLVAREZ-ZÚÑIGA & L. LÓPEZ-MATA. 2016. Diversity and distribution patterns of ferns and lycophytes in a cloud forest in Mexico. *Rev. Chapingo Ser. Cienc. For. Ambiente* 22: 235-253.
<https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2015.09.042>
- SHARPE, J. & K. MEHLTRETER. 2010. Ecological insights from fern population dynamics. En: MEHLTRETER, K., L. R. WALKER & J. SHARPE (eds.), *Fern Ecology*. pp. 61-110. University Press, Cambridge.
- SALAZAR, L., HOMEIER, J., KESSLER, M., ABRAHAMCZYK, S., LEHNERT, M., KRÖMER, T. & KLUGE, J. 2015. Diversity patterns of ferns along elevational gradients in Andean tropical forests. *Plant. Ecol. Divers.* 8: 13-24.
<https://doi.org/10.1080/17550874.2013.843036>
- TRIANA-MORENO, L. A. & J. MURILLO-A. 2005. *Helechos y plantas afines de Albán (Cundinamarca): El bosque subandino y su diversidad*. Instituto de Ciencias Naturales - Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá. <http://hdl.handle.net/20.500.11761/34609>
- TUOMISTO, H. & A. POULSEN. 1996. Influence of edaphic specialization on pteridophyte distribution in neotropical rain forest. *J. Biogeogr.* 23: 283-293.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.1996.00044.x>
- TUOMISTO, H. & A. POULSEN. 2000. Pteridophyte diversity and species composition in four Amazonian rain forests. *J. Veg. Sci.* 11: 383-396.
<https://doi.org/10.2307/3236631>
- TUOMISTO, H., G. ZUQUIM & G. CÁRDENAS. 2014. Species richness and diversity along edaphic and climatic gradients in Amazonia. *Ecography* 37: 1034-1046. <https://doi.org/10.1111/ecog.00770>
- VAN DER WERFF, H. 1992. Substrate preferences of Lauraceae and Ferns in the Iquitos Area, Perú. *Candollea* 47: 11-20.
- YOUNG, K. R. & B. LEÓN. 1989. Pteridophyte species diversity in the central Peruvian Amazon: Importance of edaphic specialization. *Brittonia* 41: 388-395. <https://doi.org/10.2307/2807552>
- WHITMORE, T. C., R. PERALTA & K. BROWN. 1985. Total species count in a Costa Rican tropical rain forest. *J. Trop. Ecol.* 1: 375-378.
<https://doi.org/10.1017/S0266467400000481>
- ZUQUIM, G., F. R. C. COSTA, J. PRADO, R. BRAGA-NETO. 2009. Distribution of pteridophyte communities along environmental gradients in Central Amazonia, Brazil. *Biodivers. Conserv.* 18: 151-166.
<https://doi.org/10.1007/s10531-008-9464-7>
- ZUQUIM, G., H. TUOMISTO, F. R. C. COSTA, J. PRADO, W. E. MAGNUSSON, T. PIMENTEL, R. BRAGA-NETO & F. O. G. FIGUEIREDO. 2012. Broad scale distribution of ferns and lycophytes along environmental gradients in central and northern Amazonia, Brazil. *Biotropica* 44: 752-762.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2012.00880.x>
- ZUQUIM, G., H. TUOMISTO, M. M. JONES, J. PRADO, F. O. G. FIGUEIREDO, G. M. MOULATLET, F. R. C. COSTA, C. A. QUESADA & T. EMILIO. 2014. Predicting environmental gradients with fern species composition in Brazilian Amazonia. *J. Veg. Sci.* 25: 1195-1207.
<https://doi.org/10.1111/jvs.12174>



MICORRIZAS ARBUSCULARES Y ENDÓFITOS SEPTADOS EN TRES ESPECIES DE THELYPTERIDACEAE DE AMBIENTES RIPARIOS DE LAS YUNGAS (TUCUMÁN, ARGENTINA)

ARBUSCULAR MYCORRHIZAE AND SEPTATE ENDOPHYTES IN THREE SPECIES OF THELYPTERIDACEAE OF RIPARIAN ENVIRONMENTS OF THE YUNGAS (TUCUMÁN, ARGENTINA)

Gabriela Romagnoli^{1*}, Marcelo D. Arana^{2,3} & Patricia L. Albornoz^{1,4}

1. Facultad Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán, Argentina
2. Instituto Criptogámico, Área Botánica, Fundación Miguel Lillo. San Miguel de Tucumán, Argentina
3. Grupo GIVE, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Instituto ICBA (UNRC-CONICET), Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina
4. Instituto de Morfología Vegetal, Área Botánica, Fundación Miguel Lillo. San Miguel de Tucumán, Argentina

*mgromagnoli@csnat.unt.edu.ar

Citar este artículo

ROMAGNOLI, G., M. D. ARANA & P. L. ALBORNOZ. 2024. Micorrizas arbusculares y endófitos septados en tres especies de Thelypteridaceae de ambientes riparios de las Yungas (Tucumán, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* n3: 335-343.

 DOI: <https://doi.org/110.31055/1851.2372.v59.n3.44734>

SUMMARY

Background and aims: The status of the presence of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in lycophytes and ferns has been analysed in 11% of them. This work aims to characterise and quantify the AMF colonisation and to characterise septate endophytes present on the roots of the Thelypteridaceae: *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola*, and *Pelazoneuron patens*.

M&M: Ten individuals per species were collected in August 2022. Conventional staining and techniques were used to estimate colonisation.

Results: The root of *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola*, and *Pelazoneuron patens* showed AMF with *Arum* and *Paris* morphological types simultaneously. The hyphal colonization showed no significant difference among species, arbuscular colonization was significantly higher in *A. jujuyensis*, while vesicular colonization was considerably higher in *A. nubicola*. In addition, septate endophytes were evident in the species of the genus *Amauropelta*.

Conclusion: The association of AMF and other fungal endophytes with the native Argentine Thelypteridaceae *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola*, and *Pelazoneuron patens* is evidenced for the first time in riparian environments of the Yungas. The coexistence of *Arum* and *Paris* morphological types in the three studied fern species is demonstrated.

KEY WORDS

Amauropelta, arbuscular mycorrhizae, ferns, fungal endophytes, *Pelazoneuron*.

RESUMEN

Introducción y objetivos: El estatus de la presencia de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en licofitas y helechos se ha analizado en un 11 %. El objetivo de este trabajo es caracterizar y cuantificar la colonización de los HMA y caracterizar endófitos septados en raíces de las Thelypteridaceae: *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola* y *Pelazoneuron patens*.

M&M: Se recolectaron 10 individuos por especie en agosto del 2022. La colonización se estimó utilizando técnicas y tinción convencionales.

Resultados: Las raíces de *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola* y *Pelazoneuron patens* presentaron HMA de tipo morfológico *Arum* y *Paris*, simultáneamente. La colonización hifal no mostró diferencia significativa entre las especies, la arbuscular evidenció un porcentaje significativo mayor en *A. jujuyensis* y la vesicular fue mayor en *A. nubicola*. Además, se evidenciaron endófitos septados en las especies analizadas del género *Amauropelta*.

Conclusiones: Se evidencia, por primera vez en ambientes riparios de las Yungas, la asociación de los HMA y otros endófitos fúngicos con *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola* y *Pelazoneuron patens*. Se demuestra en estas la coexistencia de los tipos morfológicos *Arum* y *Paris*.

PALABRAS CLAVES

Amauropelta, endófitos fúngicos, helechos, micorrizas arbusculares, *Pelazoneuron*.

Recibido: 12 Abr 2024
Aceptado: 1 Jul 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editor: Gonzalo J. Márquez 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

INTRODUCCIÓN

La asociación simbiótica mutualista entre las raíces de plantas vasculares y los hongos del Phylum Glomeromycota, se denomina micorriza arbuscular (MA) (Brundrett & Tedersoo, 2018). Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se caracterizan por presentar hifas cenocíticas que colonizan inter e intracelularmente las células de la corteza radical constituyendo dos tipos morfológicos denominados *Arum* y *Paris*. En el último, las hifas forman circunvoluciones que pueden desarrollar arbuscúlos, mientras que en la forma *Arum* las hifas intercelulares forman arbuscúlos intracelulares (Brundrett, 2004; Dickson, 2004; Smith & Read, 2008). En esta asociación la planta proporciona hidratos de carbono al hongo, y este transfiere nutrientes minerales y agua a la planta, favoreciendo una mayor tolerancia de la planta frente a factores bióticos y abióticos adversos (Bolan, 1991; Sieverding *et al.*, 1991; Brundrett, 2009; Hoysted *et al.*, 2018). Otro grupo de hongos que se encuentran en las raíces, pertenecientes a Ascomycetes o Basidiomycetes, son los endófitos septados oscuros (ESO) que se caracterizan porque sus hifas melanizadas colonizan inter e intracelularmente la corteza (Jumpponen, 2001; Barrow, 2003). Aunque su función es aún discutida, algunos estudios sugieren que, en determinadas condiciones, ejercen un efecto beneficioso sobre el crecimiento de la planta (Redman *et al.*, 2002; Mandyam & Jumpponen, 2005; Newsham *et al.*, 2009; Chadha *et al.*, 2014). Lizarraga *et al.* (2018) mencionan la presencia de otros endófitos septados, a los que denomina hongos septados desconocidos, cuya colonización es similar a los ESO, sin embargo, se diferencian por la morfología de los microesclerocios y sus hifas no melanizadas.

En relación a la diversidad estimada de licofitas y helechos, que comprende aproximadamente unas 12.000 especies (PPG I, 2016), se ha analizado la presencia de HMA en un 11%, evidenciándose esta asociación en el 67% de los taxones (Lehnert & Kessler, 2016; Lehnert *et al.*, 2017). Los antecedentes sobre los HMA en licofitas y helechos se han enfocado principalmente en caracterizar esta asociación en especies de bosques templados y tropicales

(Kessler *et al.*, 2014; Lara-Pérez *et al.*, 2014; Sánchez Baizabal *et al.*, 2020; entre otros). En Argentina la asociación de los HMA con estas plantas fue estudiada por Fernández *et al.* (2008, 2010, 2012) y Fontela *et al.* (1998, 2001, 2022) en ambientes templado fríos de los Bosques Valdivianos y de la estepa patagónica, por Becerra *et al.* (2007) para las Yungas, y por Albornoz & Hernández (2006), Hernández *et al.* (2008, 2010) y Fracchia *et al.* (2009) en helechos presentes en ambientes xéricos de los Valles Calchaquíes (provincia del Monte) y chaqueños (Chaco Serrano).

La familia Thelypteridaceae, cuya distribución es cosmopolita, está representada por 1200 especies reunidas en 37 géneros (Fawcett & Smith, 2021; Fawcett *et al.*, 2021). En Argentina se citan 8 géneros y 37 especies que habitan en diferentes ambientes. (Ponce, 2016; Yañez *et al.*, 2022; Berrueta *et al.*, 2023), habitando preferentemente bordes de selvas, bosques y riberas de cursos de agua. Para la provincia de Tucumán, Ponce (1987, 2016) mencionó 14 especies, número que fue ampliado por Romagnoli *et al.* (2023) quienes incorporaron 2 nuevas especies a la flora tucumana.

El ambiente ripario representa una interfase entre los hábitats terrestres y acuáticos, con características físicas y químicas propias, convirtiéndolo en zonas de vital importancia para el mantenimiento de la biodiversidad, propiciando un microclima húmedo ideal para el crecimiento de los helechos (Freire Boado & Guitián Rivera, 2005; Sirombra & Mesa, 2010; Silva *et al.*, 2019). En las riberas del río Los Sosa, que discurre en ambientes yungueños tucumanos, se encuentran tres especies de Thelypteridaceae de dos géneros: *Amauropelta jujuyensis* (de la Sota) Salino & T.E. Almeida, *A. nubicola* (de la Sota) Salino & T.E. Almeida y *Pelazoneuron patens* (Sw.) A.R. Sm. & S.E. Fawc. Debido a la escasa información acerca de los HMA asociados a licofitas y helechos en ambientes riparios en general, y en particular en Argentina, el objetivo de este trabajo es caracterizar y cuantificar la colonización de los HMA y caracterizar endófitos septados presentes en las raíces de tres especies nativas de Thelypteridaceae: *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola* y *Pelazoneuron patens*, presentes en las riberas del río Los Sosa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La cuenca del río Los Sosa se ubica en la vertiente oriental de las Sierras del Aconquija ($26^{\circ} 57' S$ $65^{\circ} 39' W$), en la provincia de Tucumán (Argentina) y se extiende a lo largo de la quebrada del mismo nombre. Este río nace del embalse La Angostura a los 2.000 m s.n.m. y desciende hasta los 400 m s.n.m. en la zona pedemontana (Fernández & Lutz, 2003). La cuenca está comprendida dentro de la provincia biogeográfica de las Yungas, región Neotropical, también conocidas como selva Tucumano-Boliviana (Arana *et al.*, 2021). De acuerdo con la clasificación climática de Köppen, el clima es templado moderado lluvioso con invierno seco no riguroso (Cw) cuya precipitación anual es del 80% entre los meses de noviembre a abril (Mendoza & González, 2011).

Muestreo

Se realizaron dos muestreos en el mes de agosto del 2022 en la cuenca del río Los Sosa, donde se recolectaron al azar cinco individuos por especie en cada muestreo. *Amauropelta jujuyensis* y *A. nubicola* se encontraron a los 800 m s.n.m., mientras que *P. patens* fue colectada a los 1300 m s.n.m. (Fig. 1). Cabe destacar que las especies de *Amauropelta* mencionadas constituyen endemismos que caracterizan a la provincia biogeográfica de las Yungas, en cambio *P. patens* posee una distribución más amplia (Ponce, 2016, Arana & Ponce, 2021).

Identificación y cuantificación de la colonización micorrícica arbuscular (CMA)

Los sistemas radicales de las tres especies fueron clarificados y coloreados mediante las técnicas de Phillips & Hayman (1970) y Grace & Stribley (1991). Para cada individuo se montaron en glicerol



Fig. 1. Ambiente ripario yungueño en el río Los Sosa, Tucumán, Argentina.

30 fragmentos de raíces de 1 cm de longitud. Para la estimación de la CMA se utilizó la técnica de McGonigle *et al.* (1990).

Por otra parte, se observó la existencia de esporas de HMA adheridas a las superficies de las raíces tratadas. Las observaciones se realizaron en microscopio óptico (Carl Zeiss, Axiostar Plus, Göttingen, Alemania). Las microfotografías se tomaron con cámara digital (Olympus SP350, 8.0MP, Tokyo, Japón).

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se aplicó la prueba No Paramétrica de Kruskal Wallis (Zar, 1996). Cuando

se encontraron diferencias significativas se aplicó *a posteriori* la prueba de comparaciones múltiples de Dunn (Zar, 1996).

RESULTADOS

Los sistemas radicales de *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola* y *Pelazoneuron patens* presentaron CMA, con los tipos morfológicos *Arum* y *Paris* simultáneamente (Fig. 2A-F). En la morfología *Arum* se observaron hifas intercelulares finas (2-3 μm) y gruesas (5-6 μm). Las hifas

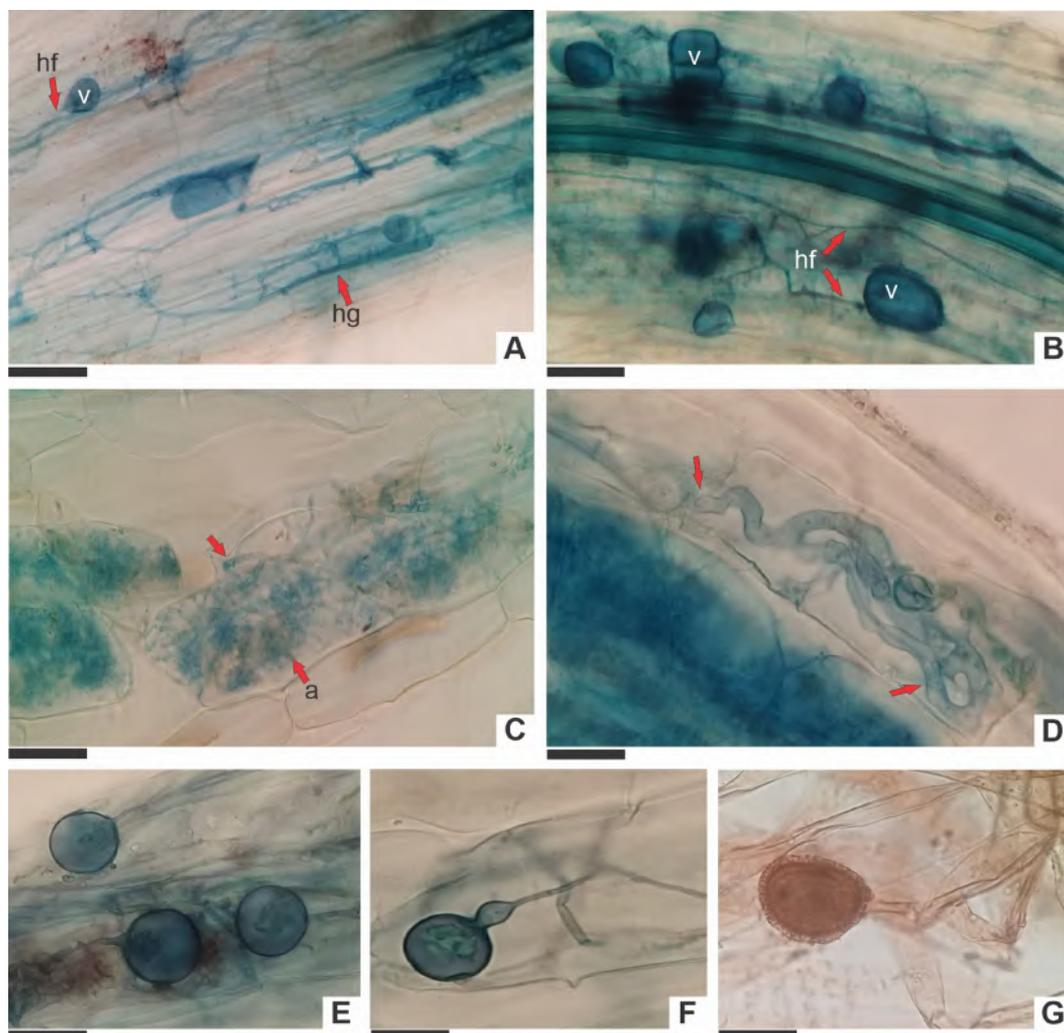


Fig.2. Micorrizas arbusculares. **A-D:** Morfología *Arum*. **E, F:** Morfología *Paris*. **G-I:** Esporas de Glomeromycota. Abreviaturas= a: arbusculos; hf: hifa fina; hg: hifa gruesa; v: vesícula. Escalas= A, B, G: 40 μm ; C: 200 μm ; D: 50 μm ; E: 150 μm ; F: 30 μm ; H, I: 20 μm .

delgadas portan vesículas elipsoidales en posición terminal (Fig. 2A, B), mientras que las hifas gruesas forman arbuscúlos intracelulares (Fig. 2A, C, D). En el tipo *Paris*, las hifas gruesas intracelulares forman circunvoluciones (Fig. 2E, F). En relación a los porcentajes de colonización, se muestran en la Tabla 1: la colonización hifal (CH) no mostró diferencia significativa entre las especies, la colonización arbuscular (CA) evidenció un porcentaje significativo mayor en *A. jujuyensis* y menor en *A. nubicola*, mientras que la colonización vesicular (CV) fue significativamente mayor en *A. nubicola*.

Los tres taxones estudiados presentaron esporas de HMA pertenecientes al Phylum Glomeromycota (Fig. 2G-I), adheridas a las raíces.

Se evidenciaron hifas y microesclerocios de ESO en las células parenquimáticas de la corteza radical de *A. nubicola* (Fig. 3A). Además, se observó la presencia de otros endófitos fúngicos con dos morfologías en los microesclerocios: con hifas redondeadas (Fig. 3B) en *A. jujuyensis* y *A. nubicola*, y con hifas alargadas (Fig. 3C) solamente en *A. nubicola*.

Tabla 1. Porcentaje de colonización por hongos micorrícicos arbusculares en *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola* y *Pelazoneuron patens* en ambientes riparios. Letras diferentes indican diferencia significativa con $p < 0,05$.

Especies	% MA		
	Hifal	Arbuscular	Vesicular
<i>A. jujuyensis</i>	78,1 ± 2,8 a	67,7 ± 3,1 b	6,1 ± 1,5 a
<i>A. nubicola</i>	81,0 ± 3,3 a	51,5 ± 3,2 a	17,6 ± 2,4 b
<i>P. patens</i>	73,7 ± 3,6 a	56,8 ± 3,2 ab	10,3 ± 2,1 a

DISCUSIÓN

Los ejemplares colectados de las tres especies de Thelypteridaceae nativas en ambientes riparios de Yungas en Argentina evidenciaron la presencia de HMA. Se demuestra la coexistencia de las morfologías *Arum* y *Paris* en los ejemplares estudiados de las especies mencionadas, condición que ha sido observada por Hernández *et al.* (2010) para la Pteridaceae *Doryopteris concolor* (Langsd. & Fisch.) Kuhn. Al presente, para las Thelypteridaceae, se reportaron HMA y ESO en 17 de 23 especies analizadas en China, India, Canadá, Ecuador y Honduras (Berch & Kendrick, 1982; Khade & Rodrigues, 2002; Zhang *et al.*, 2004; Lehnert *et al.*, 2009; Kessler *et al.*, 2010; Zubek *et al.*, 2010; Muthuraja *et al.*, 2014). Zubek *et al.* (2010) también reportan su presencia en ejemplares de *Pelazoneuron patens* procedentes del bosque húmedo tropical en Honduras. Además, en el mencionado trabajo, citaron a *P. patens* como la especie que presentó mayor colonización arbuscular entre los taxones estudiados. Las observaciones realizadas en este trabajo, para la misma especie, evidenciaron menor colonización arbuscular y vesicular. La diferencia encontrada en este estudio podría deberse por un lado al ambiente y, por otro, a las diferentes altitudes de donde provienen los especímenes, ya que las muestras analizadas aquí se tomaron a una mayor altitud. En este sentido, Kessler *et al.* (2014) mencionan que el porcentaje de micorrización es inversamente proporcional a la elevación altitudinal. Las diferencias en las estructuras de los HMA, además, podrían variar de acuerdo a numerosos factores, como condiciones edáficas, estrés biótico y abiótico, especies de HMA intervinientes, etc.

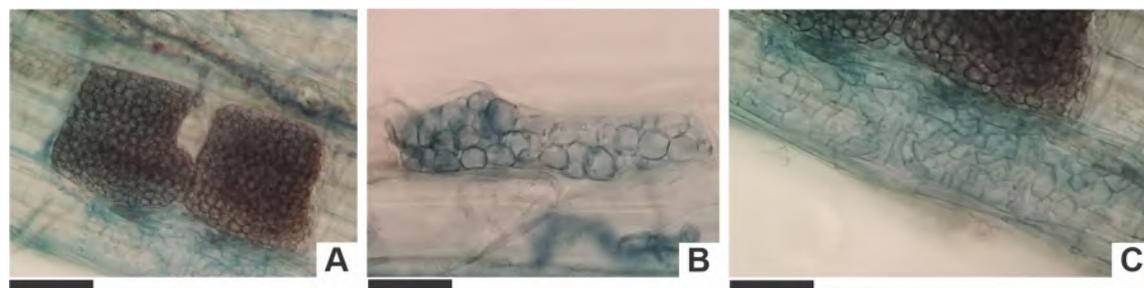


Fig. 3. Hongos endófitos septados. **A:** Esclerocios de endófitos oscuros septados. **B-C:** Esclerocios de endófitos septados desconocidos. Escalas= A: 45 μ m; B, C: 20 μ m.

En los ambientes riparios de las Yungas, el régimen de agua depende de las precipitaciones estacionales por lo que la disponibilidad de agua fluctúa a lo largo del año. En suelos propensos a sequías periódicas, las MA pueden mejorar la relación de agua en la planta hospedadora, ya que se ha observado que el potencial de agua se incrementa un 26% comparado con las plantas no micorrizadas (Bolan, 1991; Morte *et al.*, 2000). Además, en el suelo las hifas fúngicas generan redes de micelio que favorecen la formación de agregados del suelo mejorando su estructura, aparte de absorber y transportar eficazmente nutrientes minerales y agua a las plantas (Marschner & Dell, 1994; Zhao *et al.*, 1999). En este sentido, las MA proveen una ventaja ecológica a los helechos que crecen en suelos propensos a la sequía (Kessler *et al.* 2010).

En relación a los hongos endófitos septados oscuros, sólo *Amauropelta nubicola* evidenció su presencia; mientras que, tanto *A. jujuyensis* como *A. nubicola* presentaron dos tipos morfológicos de microesclerocios, coincidente con lo observado por Lizarraga *et al.* (2018) para angiospermas del género *Fragaria*.

Valdez Nuñez *et al.* (2022) mencionan que los ESO pueden formar asociaciones mutualistas similares a los HMA, facilitando la absorción de nutrientes y la protección contra varios factores de estrés en las plantas hospedadoras. Se ha demostrado que estos hongos se relacionan con la producción de metabolitos secundarios que tienen funciones antibióticas y antifúngicas, que le permiten mantener una mayor sanidad en los tejidos de diversas plantas (Chadha *et al.*, 2014). Además, se ha sugerido que la melanización de las hifas de estos hongos podría contribuir a la adaptación de la planta hospedante a condiciones adversas, ya que la melanina jugaría un rol importante en la eliminación de radicales libres que se generan bajo estrés abiótico (Redman *et al.*, 2002).

Los HMA y otros endófitos fúngicos presentes en los ejemplares de las especies de Thelypteridaceae estudiadas podrían contribuir a explicar el éxito de este linaje de helechos en colonizar y prosperar en ambientes tan dinámicos ecológicamente como son las riberas de los ríos yungueños, en las cuales estos helechos poseen una conspicua predominancia y diversidad (Ponce, 1987; Hoysted *et al.*, 2018; Fawcett & Smith, 2021). En general, las plantas que

habitan ambientes riparios dependen en gran medida de las micorrizas, las que refuerzan la estructura del suelo tanto física como químicamente. Las hifas extrarradicales de los HMA producen proteínas como la glomalina, que estabiliza los agregados del suelo que son necesarios para una infiltración eficaz del agua, reducir la escorrentía superficial, controlar la erosión del suelo, reducir las pérdidas de nutrientes y de materia orgánica, aumentar el intercambio de gases y, por tanto, mejorar el crecimiento de las plantas (Rillig *et al.*, 2006; Pagano & Cabello, 2012; Neuenkamp *et al.*, 2019; Rezacová *et al.*, 2021).

CONCLUSIONES

Se evidencia, por primera vez en ambientes riparios de las Yungas, la asociación de los HMA y otros endófitos fúngicos con las especies de Thelypteridaceae nativas argentinas: *Amauropelta jujuyensis*, *A. nubicola* y *Pelazoneuron patens*. Particularmente para la asociación con los HMA se demuestra la coexistencia de los tipos morfológicos *Arum* y *Paris* en las tres especies de helechos estudiadas. Esta investigación aporta el primer registro de interacción simbiótica mutualista entre los HMA y las especies de *Amauropelta* aquí estudiadas, debido a que las mismas constituyen endemismos restringidos a la provincia biogeográfica de las Yungas.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores han realizado conjuntamente y a partes iguales la colecta de datos, su interpretación y redacción del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Fundación Miguel Lillo por la provisión de espacio físico y equipamiento. Los autores también agradecen Rodrigo Delgado (Fundación Miguel Lillo) por su ayuda durante los trabajos de campo en las Yungas. Se agradece a dos revisores anónimos cuyos comentarios contribuyeron a mejorar el manuscrito. Este trabajo forma parte del trabajo doctoral de la

primera autora. Esta investigación fue financiada por la Universidad Nacional de Tucumán. (PIUNT 2023 G743, Proyecto), Fundación Miguel Lillo (FMLCAV-B-0002-1 Proyecto).

BIBLIOGRAFÍA

- ALBORNOZ, P. L. & M. HERNÁNDEZ. 2006. Anatomía y endomicorrizas en *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia* (Pteridaceae) en Tucumán (Argentina). *Lilloa* 43:13-21.
- ARANA, M. D., E. S. NATALE, N. E. FERRETTI, G. M. ROMANO, ... & J. J. MORRONE. 2021. Esquema biogeográfico de la República Argentina. Fundación Miguel Lillo. *Opera Lilloana* 56: 1-240.
- ARANA, M. D. & M. M. PONCE. 2021. Contribución de licofitas y helechos endémicos al esquema biogeográfico evolutivo de la Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 56 (Supl.): 16.
- BARROW, J. R. 2003. Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands. *Mycorrhiza* 13: 239-247. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0222-0>
- BECERRA, A., M. CABELLO & F. CHIARINI. 2007. Arbuscular mycorrhizal colonization of vascular plants from the Yungas forests, Argentina. *Ann. For. Sci.* 64: 765-772. <https://doi.org/10.1051/forest:2007056>
- BERCH, S. M. & B. KENDRICK. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of southern Ontario ferns and fern-allies. *Mycologia* 74: 769-776. <https://doi.org/10.1080/00275514.1982.12021584>
- BERRUETA, P. C., M. PONCE, M. L. LUNA, G. GIUDICE & M. D. ARANA. 2023. *Amauropelta platensis* (Thelypteridaceae), New combination for the endemic Southern Cone Fern Flora. *Rodriguesia* 74: e00492023. <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202374064>
- BOLAN, N. S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil* 134: 189-207. <https://doi.org/10.1007/BF00012037>
- BRUNDRETT, M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol. Rev.* 79: 473-495. <https://doi.org/10.1017/S1464793103006316>
- BRUNDRETT, M. C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320: 37-77.
- BRUNDRETT, M. C. & L. TEDERSOO. 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytol.* 220: 1108-1115. <https://doi.org/10.1111/nph.14976>
- CHADHA, N., M. MISHRA, R. PRASAD & A. VARMA. 2014. Root endophytic fungi: research update. *J. Biol. Life Sci.* 5: 135-158. <https://doi.org/10.5296/jbls.v5i2.5960>
- DICKSON, S. 2004. The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 163: 187-200. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01095.x>
- FAWCETT, S. & A. R. SMITH. 2021. *A Generic Classification of the Thelypteridaceae*. BRIT Press. Fort Worth.
- FAWCETT, S., A. R. SMITH, M. SUNDUE, J. G. BURLEIGH, ... & D. S. BARRINGTON. 2021. A global phylogenomic study of the Thelypteridaceae. *Syst. Bot.* 46: 891-915. <https://doi.org/10.1600/036364421X16370109698650>
- FERNÁNDEZ, D. S. & M. A. LUTZ. 2003. Procesos de remoción en masa y erosión fluvial en la quebrada del río Los Sosa, provincia de Tucumán. *Rev. Asoc. Geol. Arg.* 58: 255-266.
- FERNÁNDEZ, N., M. I. MESSUTI & S. FONTENLA. 2008. Arbuscular mycorrhizas and dark septate fungi in *Lycopodium paniculatum* (Lycopodiaceae) and *Equisetum bogotense* (Equisetaceae) in a Valdivian temperate forest of Patagonia, Argentina. *Am. Fern J.* 98: 117-127. [https://doi.org/10.1640/0002-8444\(2008\)98\[117:AMADSF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1640/0002-8444(2008)98[117:AMADSF]2.0.CO;2)
- FERNÁNDEZ, N., S. FONTENLA & M. I. MESSUTI. 2010. Mycorrhizal status of obligate and facultative epiphytic ferns in a Valdivian temperate forest of Patagonia, Argentina. *Am. Fern J.* 100: 16-26. <https://doi.org/10.1640/0002-8444-100.1.16>
- FERNÁNDEZ, N. V., M. I. MESSUTI & S. B. FONTENLA. 2012. Occurrence of arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes in pteridophytes from a patagonian rainforest, Argentina. *J. Basic Microbiol.* 53: 498-508.
- FONTENLA, S., R. GODOY, P. ROSSO, & M. HAVRYLENKO. 1998. Root associations in *Austrocedrus* forests and seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizas. *Mycorrhiza* 8: 29-33.
- FONTENLA, S., J. PUNTIERI & J. A. OCAMPO. 2001. Mycorrhizal associations in the Patagonian steppe, Argentina. *Plant Soil* 233: 13-29.
- FONTENLA, S. B., N. V. FERNÁNDEZ, M. C. MESTRE & J. P. PUNTIERI. 2022. Current knowledge on mycorrhizal symbiosis and endophytes in northwest

- Patagonia, Argentina. En: LUGO, M.A. & M.C. PAGANO (eds.), *Mycorrhizal Fungi in South America*, pp. 255-279. Fungal Biology, Springer, Cham.
https://doi.org/10.1007/978-3-031-12994-0_13
- FRACCHIA, S., A. ARANDA, A. GOPAR, V. SILVANI & A. GODEAS. 2009. Mycorrhizal status of plant species in the Chaco Serrano Woodland from central Argentina. *Mycorrhiza* 19: 205-214.
- FREIRE BOADO, M. A. & L. GUITIÁN RIVERA. 2005. Caracterización de la vegetación en los ambientes ribereños del curso medio del río Ulla. *Xerografía* 5: 61-83.
- GRACE, C. & D. P. STRIBLEY. 1991. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.* 95: 1160-1162.
[https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80005-1](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80005-1)
- HERNÁNDEZ, M., P. L. ALBORNOZ, F. RODRÍGUEZ & S. SERRANO. 2008. Anatomía de rizoma, raíz y micorrizas arbusculares en *Cheilanthes pruinata* Kaulf y *C. myriophylla* Desv. (Pteridaceae) en el Noroeste Argentino. *Lilloa* 45: 73-82.
- HERNÁNDEZ, M. A., G. TERÁN & P. L. ALBORNOZ. 2010. Morfología, anatomía y endomicorrizas en el esporofito de *Doryopteris concolor* (Pteridaceae). *Lilloa* 47: 73-83.
- HOYSTED, G. A., J. KOWAL, A. JACOB, W. R. RIMINGTON, ... & M. I. BIDARTONDO. 2018. A mycorrhizal revolution. *Curr. Opin. Plant Biol.* 44: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.12.004>
- JUMPPONEN, A. 2001. Dark septate endophytes—are they mycorrhizal? *Mycorrhiza* 11: 207-211.
<https://doi.org/10.1007/s005720100112>
- KHADE, S. W. & B. F. RODRIGUES. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with some pteridophytes from Western Ghats region of Goa. *Trop. Ecol.* 43: 251-256.
- KESSLER, M., R. JONAS, D. CICUZZA, J. KLUGE & M. LEHNERT. 2010. A survey of the mycorrhization of Southeast Asian ferns and lycophytes. *Plant Biol.* 12: 788-793.
- KESSLER, M., R. GÜDEL, L. SALAZAR, J. HOMEIER, ... & J. KLUGE. 2014. Impact of mycorrhization on the abundance, growth and leaf nutrient status of ferns along a tropical elevational gradient. *Oecologia* 175: 887-900.
<https://doi.org/10.1007/s00442-014-2941-7>
- LARA-PÉREZ, L. A., J. C. NOA-CARRAZANA, Á. D. J. LANDA LÓPEZ, S. HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, ... & A. ANDRADE TORRES. 2014. Colonización y estructura de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares en *Alsophila firma* (Cyatheaceae) en bosque mesófilo de montaña en Veracruz, México. *Rev. Biol. Trop.* 62: 1609-1623.
<https://doi.org/10.15517/rbt.v62i4.13324>
- LEHNERT, M., I. KOTTKE, S. SETARO, L. F. PAZMIÑO, ... & M. KESSLER. 2009. Mycorrhizal associations in ferns from Southern Ecuador. *Am. Fern J.* 99: 292-306.
- LEHNERT, M. & M. KESSLER. 2016. Mycorrhizal relationships in lycophytes and ferns. *Fern Gazette.* 20: 101-116.
- LEHNERT, M., M. KRUG & M. KESSLER. 2017. A review of symbiotic fungal endophytes in lycophytes and ferns—a global phylogenetic and ecological perspective. *Symbiosis* 71: 77-89.
<https://doi.org/10.1007/s13199-016-0436-5>
- LIZARRAGA, S. V., G. A. PEREZ, A. I. RUIZ, S. M. SALAZAR, ... & P. L. ALBORNOZ. 2018. Rendimiento frutal de tres variedades de *Fragaria ananassa* en relación con el grado de colonización por micorrizas arbusculares y otros endófitos fúngicos, Tucumán, Argentina. Respuesta histológica radical a la interacción. *Rev. Agron. Noroeste Arg.* 38: 145-154.
- MANDYAM, K. & A. JUMPPONEN. 2005. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Stud Mycol.* 53: 173-189.
<https://doi.org/10.3114/sim.53.1.173>
- MARSCHNER, H. & B. DELL. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil.* 159: 89-102.
<https://doi.org/10.1007/BF000000098>
- MCGONIGLE, T. P., M. H. MILLER, D. G. EVANS, G. L. FAIRCHILD & J. A. SWAN. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- MENDOZA, E. A. & J. A. GONZÁLEZ. 2011. Las ecorregiones del noroeste argentino basadas en la clasificación climática de Köppen. *Serie Conserv. Nat.* 19: 3-41.
- MORTE, A., C. LOVISOLO & A. SCHUBERT. 2000. Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense* - *Terfezia clavaryi*. *Mycorrhiza* 10: 115-119. <https://doi.org/10.1007/s005720000066>
- MUTHURAJA, R., T. MUTHUKUMAR, K. SATHIYADASH, E. UMA & P. PRIYADHARSINI. 2014. Arbuscular mycorrhizal (AM) and dark septate endophyte (DSE) fungal association in

- lycophytes and ferns of the Kolli Hills, Eastern Ghats, Southern India. *Am. Fern J.* 104: 67-102. <https://doi.org/10.1640/0002-8444-104.2.67>
- NEUENKAMP, L., S. M. PROBER, J. N. PRICE, M. ZOBEL & R. J. STANDISH. 2019. Benefits of mycorrhizal inoculation to ecological restoration depend on plant functional type, restoration context and time. *Fungal Ecol.* 40: 140-149.
- NEWSHAM, K. K., R. UPSON & D. J. READ. 2009. Mycorrhizas and dark septate root endophytes in polar regions. *Fungal Ecol.* 2: 10-20. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2008.10.005>
- PAGANO, M. C. & M. N. CABELLO. 2012. Mycorrhizas in Natural and Restored Riparian Zones. En: PAGANO, M. C. (ed.), *Mycorrhiza: Occurrence and Role in Natural and Restored Environments*, pp. 292-316. Nova Science Publishers, Hauppauge.
- PHILLIPS, J. M. & D. S. HAYMAN. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-IN18. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- PONCE, M. M. 1987. *Revisión sistemática de las Thelypteridaceae (Pteridophyta) argentinas*. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- PONCE, M. M. 2016. Thelypteridaceae. En: PONCE, M. M & M. D. ARANA (coords.), *Flora Vascular de la República Argentina*, vol. 2: 353-384. Estudio Sigma S.R.L., Buenos Aires. <https://doi.org/10.2307/j.ctt1p0vjr5.35>
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *J. Syst. Evol.* 54: 563-603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- REDMAN, R. S., K. B. SHEEHAN, R. G. STOUT, R. J. RODRIGUEZ & J. M. HENSON. 2002. Thermo tolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science* 298: 1581-1584. <https://doi.org/10.1126/science.1078055>
- ŘEZÁČOVÁ, V., A. CZAKÓ, M. STEHLÍK, M. MAYEROVÁ & M. MADARAS. 2021. Organic fertilization improves soil aggregation through increases in abundance of eubacteria and products of arbuscular mycorrhizal fungi. *Sci Rep* 11: 12548. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91653-x>
- RILLIG, M. C. & D. L. MUMMEY. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol.* 171: 41-53.
- ROMAGNOLI, G., P. L. ALBORNOZ & M. D. ARANA. 2023. Nuevas citas para la flora de helechos (Polypodiopsida) en las Yungas de Tucumán, Argentina. *Lilloa* 60: 97-104. <https://doi.org/10.30550/j.lil/2023.60.1/2023.06.01>
- SÁNCHEZ BAIZABAL, E. M. S., R. MEDEL-ORTIZ & D. T. AGUILAR. 2020. Evidencia de asociaciones fúngicas en *Phlegmariurus reflexus* (Lycopodiaceae). *Botanical Sciences* 100: 345-352. <https://doi.org/10.17129/botsci.2953>
- SIEVERDING, E., J. FRIEDRICHSEN & W. SUDEN. 1991. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. Sonderpublikation der GTZ, Eschborn.
- SILVA, V. L. D., C. R. ORLANDI, L. FUNCK, M. C. WINHELMANN & E. M. D. FREITAS. 2019. Heterogeneity of fern communities in riparian forest remnants from the South Brazilian Campos (Pampa). *Braz. J. Biol.* 80: 803-813. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.221124>
- SIROMBRA, M. G. & L. M. MESA. 2010. Composición florística y distribución de los bosques ribereños subtropicales andinos del río Lules, Tucumán, Argentina. *Rev. Biol. Trop.* 58: 499-510. <https://doi.org/10.15517/rbt.v58i1.5224>
- SMITH, S. E. & D. J. READ. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd ed. Academic Press, Londres.
- VALDEZ NÚÑEZ, R. A., J. C. ROJAS GARCÍA & E. J. BEDMAR. 2022. Dark septate endophytes: A review. *Mol* 22: 1-13.
- YAÑEZ, A., G. J. MARQUEZ, D. OCAMPO TERRAZA & M. PONCE. 2022. *Amauropelta yabotiensis* (Thelypteridaceae), a new species from Biosphere Yabotí Reserve (Misiones, Argentina) and its taxonomic relationships. *An. Acad. Bras. Cienc.* 94: e20201870. <https://doi.org/10.1590/0001-376520220201870>
- ZHANG, Y., L. D. GUO & R. J. LIU. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with common pteridophytes in Dujiangyan, southwest China. *Mycorrhiza* 14: 25-30. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0272-3>
- ZAR, J. D. 1996. *Bioestatistical analysis*. Tercera edición. Prentice Hall Inc., New Jersey.
- ZHAO, Y. J., S. X. GUO & W. W. GAO. 1999. The symbiosis of endophytic fungi with *Cymbidium goeringii* and its effects on the mineral nutrition absorption. *Acta Horticulturae Sin.* 26: 110-115.
- ZUBEK, S., K. PIĄTEK, P. NAKS, W. HEISE & P. MLECZKO. 2010. Fungal root endophyte colonization of fern and lycophyte species from the Celaque National Park in Honduras. *Am. Fern J.* 100: 126-136. <https://doi.org/10.1640/0002-8444-100.2.126>



HELECHOS Y LICOFITAS DEL SUDESTE DEL SISTEMA DE TANDILIA (BUENOS AIRES, ARGENTINA): COMPOSICIÓN, AFINIDAD BIOGEOGRÁFICA Y PATRONES DE DIVERSIDAD ECOLÓGICA

FERNS AND LYCOPHYTES FROM THE SOUTHEASTERN OF TANDILIA (BUENOS AIRES, ARGENTINA): COMPOSITION, BIOGEOGRAPHICAL AFFINITIES AND ECOLOGICAL DIVERSITY PATTERNS

Gonzalo D. Sottile^{1,2*} , Tomás O'Connor^{1,3} , Gonzalo Burgos Herrera^{1,4} ,
Carolina P. Wraage^{1,2}  & Patricia A. Suárez⁵ 

SUMMARY

1. Grupo de Biología y Ecodiversidad Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC, UNMDP-CONICET), Mar del Plata, Argentina
2. Grupo de Paleocología y Palinología, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC, UNMDP-CONICET), Mar del Plata, Argentina
3. Laboratorio de Vertebrados, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC, UNMDP-CONICET), Mar del Plata, Argentina
4. Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC-CONICET), Mar del Plata, Argentina. Fundación para Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA), Mar del Plata, Argentina
5. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC, UNMDP-CONICET), Mar del Plata, Argentina

* gonzalo_sottile@yahoo.com.ar

Citar este artículo

SOTTILE, G. D., T. O'CONNOR, G. BURGOS HERRERA, C. P. WRAAGE & P. A. SUÁREZ. 2024. Helechos y licofitas del sudeste del Sistema de Tandilia (Buenos Aires, Argentina): composición, afinidad biogeográfica y patrones de diversidad ecológica. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 345-374.

DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v59.n3.44744>

Recibido: 13 Abr 2024
Aceptado: 19 Jul 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editora: Agustina Yañez 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

Background and aims: The Tandilia system is a fundamental refuge for a highly diverse biota throughout the wide climatic variability of the mid-late Cenozoic that affected the Pampean steppe, especially for fern and lycophyte flora. The geology and proximity to the sea in the southeast of the Tandilia system raise questions about the composition and biogeographical affinities of the fern and lycophyte flora. Furthermore, given the anthropogenic landscape transformation, it is necessary to inventory the status of the frequency and microenvironments in which these species develop. Thus, we present an inventory and frequency of ferns and lycophytes of the southeast of Tandilia associated with different microenvironments and biogeographical affinity and develop a dichotomous key for the area.

M&M: We collected fern and lycophyte between 2006 and 2024 in Balcarce and General Pueyrredon hill ranges and they were compared with those fern and lycophyte flora from Ventania and Tandilia.

Results: This study shows that 51% of the ferns and lycophytes reported at Tandilia rangeland System develop in the southeastern of Tandilia. An increase of Austro-Brazilian elements and decrease of Austral-Antarctic elements were observed, linked to latitudinal and biogeographical aspects. Adaptive traits related to a water availability gradient and different microenvironments were established. Eight species were cataloged as rare due to their low frequency.

Conclusions: The results highlight the need to plan conservation areas for the fern and lycophyte flora of the Tandilia mountain system.

KEY WORDS

Biodiversity, biogeography, Buenos Aires, conservation, pterido-flora, rangelands.

RESUMEN

Introducción y objetivos: El sistema de Tandilia (Buenos Aires, Argentina) es un refugio fundamental para una biota altamente diversa frente a la variabilidad climática durante el Cenozoico medio-tardío, especialmente para helechos y licofitas de la flora pampeana. La geología y cercanía al mar del sudeste del sistema de Tandilia plantean interrogantes sobre la composición y afinidades biogeográficas de helechos y licofitas. Ante la transformación antrópica del paisaje urge inventariar las especies y los microambientes en los que se desarrollan. Este trabajo presenta un inventario de la riqueza y frecuencia de helechos y licofitas del sudeste de Tandilia asociado a diferentes microambientes serranos, su afinidad biogeográfica y una clave dicotómica para el área.

M&M: Se realizaron colectas entre 2006-2024 en sierras de los Partidos de Balcarce y General Pueyrredon y se comparó estos registros con los de la flora de helechos y licofitas de Ventania y Tandilia.

Resultados: El sudeste de Tandilia registra el 51% de los helechos y licofitos reportados para el Sistema de Tandilia. Se observó un incremento de elementos austro-brasileños y una disminución de austral-antárticos vinculado a aspectos latitudinales y biogeográficos. Se determinaron adaptaciones que les permiten desarrollarse en un gradiente de disponibilidad hídrica asociado a diferentes microambientes. Ocho especies fueron catalogadas como raras debido a su baja frecuencia.

Conclusiones: Los resultados muestran la necesidad planificar áreas de conservación de la flora de helechos y licofitas del sistema serrano de Tandilia.

PALABRAS CLAVE

Biodiversidad, biogeografía, conservación, Buenos Aires, pteridoflora, sierras.

INTRODUCCIÓN

El distrito Pampeano Austral como parte de la Provincia Pampeana (Cabrera, 1971; Arana *et al.*, 2021a) se extiende al sur de la provincia de Buenos Aires incluyendo llanuras onduladas y serranías en su borde nordeste y sur donde se alcanzan alturas de hasta ca. 1300 m s.n.m. (Cerro Tres Picos, Sierra de la Ventana). Estas serranías forman parte de dos sistemas con ejes entre sí subparalelos y rumbo Este-Sureste: el Sistema Serrano de Ventania y Tandilia. El Sistema Serrano de Tandilia es una cadena de colinas y lomas mesetiformes, que se extiende desde el partido de Olavarría angostando su ancho hacia el sudeste y entra en contacto con la costa Atlántica en la ciudad de Mar del Plata (Frenguelli, 1950; Cingolani, 2010). El sistema de Ventania, más que un cordón es una serranía cuyos miembros se distribuyen en dos grupos que convergen hacia el Noroeste. Este sistema por su parte presenta un mayor desarrollo altitudinal (con cerros que superan los 1000 m s.n.m.), un relieve más complejo y quebrado, así como diferentes tipos de sustratos asociados a las variaciones en el relieve (Frenguelli, 1950; Frangi & Bottino, 1995). Las serranías bonaerenses representan áreas de gran importancia para la provincia de Buenos Aires, dado que alberga una gran variedad de especies y que sus sierras son consideradas como islas de biodiversidad dentro de la provincia biogeográfica Pampeana (Kristensen & Frangi, 1996; Sottile *et al.*, 2011; Jaimes *et al.*, 2019).

La disponibilidad de gran variedad de microhábitats en el ambiente serrano (Ponce, 1982) ha representado un refugio fundamental para la supervivencia de una biota con afinidades ecológicas altamente diversas (Crisci *et al.*, 2001; de la Sota, 2004; Arana *et al.*, 2021a) frente a la variabilidad climática que ha afectado a la estepa pampeana durante el Terciario y Cuaternario (Páez & Prieto, 1993; Prieto, 1996; Tonello & Prieto, 2010; Colobig *et al.*, 2016) generando patrones de endemismos de flora y fauna (Crisci *et al.*, 2001; Vega *et al.*, 2008, 2018; Ferretti *et al.*, 2012). Por otro lado, los estudios sobre las relaciones biogeográficas de helechos y licofitos de la provincia de Buenos Aires con otras regiones del cono sur (ej. de la Sota, 1967; Ponce *et al.*, 2002; de la Sota *et al.*, 2004) sugieren que las sierras bonaerenses representan una estación intermedia en

el marco de la migración de especies a través de un arco serrano peripamético, conformado por éstas y las sierras pampeanas (Frenguelli, 1950; de la Sota, 1967). Estas áreas intermedias tendrían un rol fundamental en la migración de especies de origen austral-antártico, andino-pampeano y austral-brasileño (de la Sota, 1967, Ponce *et al.*, 2002; de la Sota *et al.*, 2004, Arana *et al.*, 2021a).

Estudios previos sobre la biota serrana sugieren características comunes que permite incluirlas en la Pampa austral dentro de la Provincia pampeana o Ecorregión Pampeana. Sin embargo, se han planteado aspectos diferenciales entre las comunidades de Tandilia y Ventania, apelando a las diferencias en altura, posición más o menos occidental de cada una y latitud de las mismas (de la Sota, 1967) que favorecen una mayor dominancia de elementos austral-antárticos y andino-pampeanos en Ventania, mientras que la representación de elementos austral-brasileños es mayor en Tandilia. Incluso Guerrero & Apodaca (2022) plantean la necesidad de que las áreas más elevadas de Ventania conformen una provincia biogeográfica independiente de la provincia Pampeana dados sus altos niveles de endemismos y afinidades con elementos de la provincia de Monte. Por otro lado, el sistema de Tandilia, a diferencia de Ventania, presenta una extensión considerable (350 km) de disposición noroeste-sudeste llegando hasta la costa a la altura de la ciudad de Mar del Plata y su composición geológica aflorante varía a lo largo del sistema (Martínez, 2011a, b). Esta heterogeneidad del sistema junto con la disponibilidad y abundancia de diversos microambientes son forzantes con potencial para la generación de patrones de distribución particulares para diferentes taxones de la flora y fauna (Sottile *et al.*, 2011). El sudeste de Tandilia que abarca principalmente a los partidos de Balcarce y General Pueyrredon, está compuesto geológicamente por rocas ortocuarcitas de la formación Balcarce (Ordovícico-Silúrico) aflorantes, y depósitos loésicos de origen Cuaternario (Teruggi & Kilmurray, 1980; Cingolani, 2011) que cubren áreas de cumbres, sectores de pendiente y pedemonte serrano con diferentes espesores. Si bien parte de las serranías está sujeta a la invasión de especies leñosas exóticas que implican un reemplazo de la biota original (Zaninovich *et al.*, 2023), este complejo de comunidades vegetales orófilas junto

con una considerable riqueza de helechos y licofitas, briológica y líquénica (Frangi, 1975; Sottile *et al.*, 2023) se conservan sobre laderas y cumbres de diferentes sierras, en especial aquellas de difícil acceso a maquinaria agrícola o destinadas a actividades ecoturísticas a diferencia de los sectores de llanura altamente transformados por actividades agrícola-ganaderas intensivas (Sottile *et al.*, 2011; Arana *et al.*, 2021a).

Estudiar la abundancia, distribución y preferencia de microhábitats de los organismos nativos de las sierras bonaerenses es fundamental para el diseño adecuado de políticas tendientes a la conservación de las especies y a la utilización sustentable de estos ecosistemas que se encuentran altamente amenazados por el avance de actividades antrópicas intensivas ortodoxas que no contemplan el alto valor de estas áreas como parte de nuestro patrimonio natural, histórico y cultural. Además, esta información es crucial para la evaluación del estado de conservación de las especies a escala regional, desafío imperioso sobre todo para organismos vegetales y hongos de nuestro país (IUCN, 2012). Si bien se han realizado algunas iniciativas que procuran inventariar y registrar patrones de diversidad vegetal en el sudeste del sistema de Tandilia (ej. Alonso *et al.*, 2009; Echeverría *et al.*, 2017, 2023; Vignolo *et al.*, 2021; Wraage, 2023), son pocos los trabajos que se centran en los helechos y licofitas. Los trabajos pioneros de Capurro (1961), de la Sota (1967) y Ponce (1982), brindaron información relevante a partir del análisis de información proveniente de observaciones a campo y análisis de material de herbario (de colecciones desde finales del siglo XIX, ej. Lorentz y Niederlein, Aguirre, Spegazzini en Capurro, 1969) que permitieron describir patrones de distribución de un gran número de helechos y licofitas en el marco de la provincia de Buenos Aires, y también destacar aspectos sobre la autoecología de los principales taxones registrados hasta ese momento en el distrito de la Pampa Austral. Los autores manifestaron que el 57% de los helechos y licofitas registrados en la provincia de Buenos Aires habitan en las zonas serranas (de la Sota, 1967). De las especies de helechos y licofitas correspondientes a las serranías bonaerenses se observa que la componente andino-pampeana es dominante en Tandilia y Ventania, mientras que los elementos de afinidad austral-antártica son más

abundantes en Ventania probablemente asociado a la mayor altura de este sistema y las condiciones mesoclimáticas más extremas y semejantes a las dominantes en los bosques templado-patagónicos (de la Sota, 1967; Frangi & Bottino, 1995).

El objetivo de este trabajo es evaluar el grado de representación de la riqueza de helechos y licofitas de las sierras del sudeste de Tandilia respecto a la pteridoflora reportada hasta el momento para las sierras bonaerenses y comparar su composición biogeográfica respecto de la de Tandilia y Ventania para determinar si la cercanía a la costa del extremo sudoriental imprime caracteres biogeográficos particulares. Además, se pretende registrar la frecuencia y distribución de las especies de acuerdo a los microhábitats disponibles en Sierras de los partidos de Balcarce y General Pueyrredon. Finalmente, se presenta una clave dicotómica que permita distinguir a las especies de la pteridoflora del sudeste de Tandilia priorizando la utilización de caracteres útiles para su diferenciación a campo siempre que fuera posible, así como una descripción general de los taxones registrados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El sistema serrano de Tandilia, ubicado al sudeste de la provincia de Buenos Aires, se extiende desde la ciudad de Olavarría hasta Mar del Plata (Frangi, 1975; Turner, 1975; Crisci *et al.*, 2001; Martínez, 2011a; Morello *et al.*, 2012). El clima del sector sudoriental de Tandilia es húmedo-subhúmedo mesotermal con valores de déficit hídrico generalmente en verano. La temperatura media anual es de 14 °C donde la influencia de condiciones marítimas modera la temperatura entre 32 °C y levemente por debajo de los 0 °C. Las precipitaciones anuales son de 850 mm (Falasca *et al.*, 2000). La altura máxima entre el Partido de Balcarce y General Pueyrredon se encuentran en las sierras de La Vigilancia y El Volcán siendo éstas de 300 m s.n.m. (Frangi, 1975; Martínez, 2011a).

Las sierras del sudeste de Tandilia forman parte de la Formación Balcarce y se encuentran compuestas por un basamento de rocas metamórficas precámbricas, con depósitos aflorantes de ortocuarcitas paleolíticas que en ocasiones son cubiertos por estratos loésicos de origen

Cuaternario, siendo este último el material parental del suelo desarrollado (Frangi, 1975; Teruggi & Kilmurray, 1980; Martínez, 2011a; Sottile *et al.*, 2011). Los suelos pertenecen mayormente a la categoría de Hapludoles líticos, Hapludoles típicos y Argiudoles típicos, dentro del orden de los Molisoles (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria [INTA], 1989; Barsky 1991; Maccarini & Baleani, 1995; Pazos, 1996; United States Soil Survey Staff [USSSS], 1999; Martínez, 2011a). La vegetación típica es representativa del distrito Pampa Austral (*sensu* Arana *et al.*, 2021a) dominada por estepas gramíneas de los géneros *Nassella* (Trin.) E. Desv., *Piptochaetium* J. Presl, *Paspalum* L., *Bromus* L y *Poa* L, entre otros. En particular, estas comunidades esteparias se combinan o intercalan con matorrales de *Colletia paradoxa* (Spreng.) Escal., *Discaria americana* Gilles & Hook., *Baccharis dracunculifolia* subsp. *tandilensis* (Speg.) Giuliano y *Dodonaea viscosa* Jacq. en los suelos rocosos del sudeste de Tandilia (Arana *et al.*, 2021a). El perfil serrano de Tandilia se compone generalmente de cuatro geoformas con comunidades vegetales características, dadas por la granulometría y desarrollo del sedimento, la pendiente del terreno y la altitud: cumbre plana, vertiente rocosa, lóbulo de solifluxión y base (Frangi, 1975; Martínez, 2007, 2011a; Sottile *et al.*, 2011; Morello *et al.*, 2012; Wraage, 2023). A su vez poseen una orientación noroeste-sudeste evidenciando dos laderas: noreste y sudoeste, siendo la primera de pendiente más abrupta (Martínez, 2011a). La variabilidad geomorfológica se combina con una gran heterogeneidad espacial que conforma microhábitats y microclimas locales asociados a nichos ecológicos diversos (Frangi, 1975; Sottile *et al.*, 2011; Morello *et al.*, 2012; Wraage, 2023).

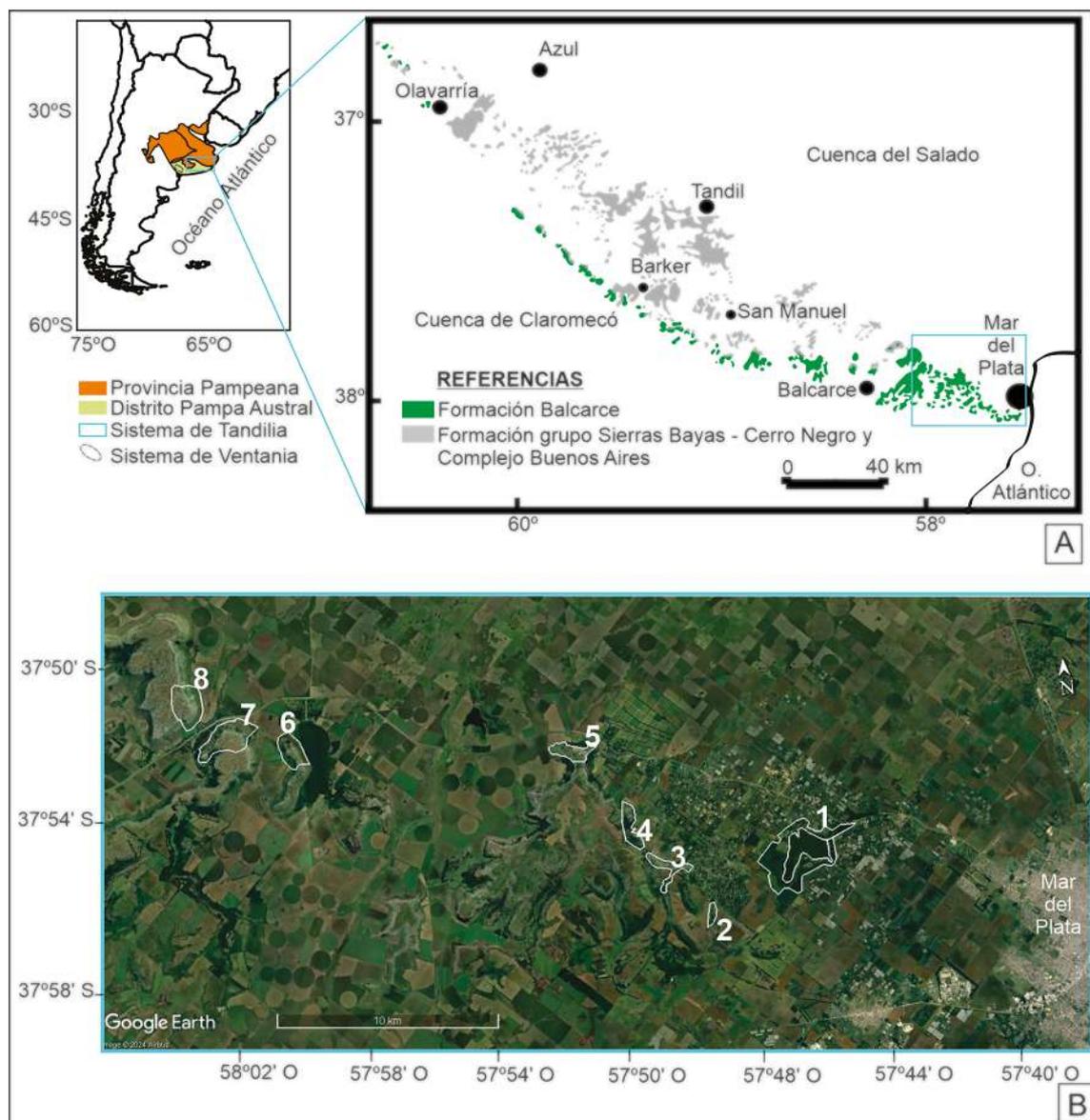
Área de muestreo

Se seleccionó un área que comprende una transecta noroeste-sudeste que incluye distintas áreas serranas y pedemonte con vegetación espontánea que generalmente se encuentran rodeadas por parcelas agrícolas y semi-urbanizadas de los partidos de Balcarce y General Pueyrredon (Fig. 1). Del total del área relevada (15 km²), dos de los sitios corresponden a áreas protegidas (Reserva Natural Privada Paititi, de 1,1 km², y Reserva Municipal Laguna de los Padres, de 5 km²) mientras que las seis restantes corresponden

a parcelas privadas (Sierra de los Padres I -0,5 km²-; 3: Sierra de los Padres II -1,1 km²-, Sierra de los Difuntos -1,1 km²-, Sierra El Volcán -2 km²-, Sierra la Brava, de 1,5 km², y Sierra La Vigilancia, 2,7 km²) de las cuáles dos de ellas se destinan a actividades vinculadas con el ecoturismo (Sierra la Brava y Sierra La Vigilancia). En las áreas relevadas se contempló el registro de helechos y licofitas presentes en las terrazas de inundación y costa de arroyos y lagunas permanentes, mientras que también se evaluó la presencia de poblaciones total o parcialmente sumergida de cuerpos de agua someros (a <25 cm de profundidad) efímeros que son frecuentes en áreas de cumbre plana en el sector serrano.

Los relevamientos se realizaron entre 2006 y 2024 mediante el método propuesto por Filguieras *et al.* (1994): “Caminamiento rápido” que consiste en la realización de caminatas en los diferentes microambientes serranos registrando todas las especies de helechos y licofitas presentes encontradas durante el lapso de hasta 15 minutos en cada microhábitat (Walter & Guarino, 2006) presentes en los diferentes sitios seleccionados (Fig. 1). Dada la diferencia en tamaño del área y dificultades de acceso a los diferentes sitios junto con la disponibilidad y variedad de microhábitats que cada uno presentaba, el esfuerzo de muestreo fue equitativo (en término de horas totales de caminata de acuerdo a la superficie del sitio) considerando las diferencias existentes entre los sitios seleccionados. Los especímenes fueron colectados y procesados mediante técnicas estándares y los vouchers fueron depositados en el Herbario MDQ (Thiers, 2013).

La nomenclatura taxonómica se corresponde con la clasificación seguida por el PPG I (2016), la Flora vascular Argentina (Ponce & Arana, 2016), Arana *et al.* (2021b) y Zhang & Zhang (2022). La revisión de las especies reportadas para las sierras bonaerenses (Tandilia y Ventania) se realizó a partir de los ejemplares reportados en Capurro (1961), de la Sota (1967, 1972, 1973, 1985), Arana *et al.* (2012, 2013); Ponce & Arana (2016), Ganem (2017), Schwartzburd *et al.* (2018) y Arana *et al.* (2021a) y en bases de datos disponibles en Flora Argentina (<http://www.floraargentina.edu.ar/publicaciones.asp>), y de los herbarios CORD, LIL, SI disponibles en Global Biodiversity Information Facility (www.gbif.org). La afinidad biogeográfica de los taxones se asignó a partir de lo consignado por de la Sota (1967, 1973)



e información publicada en Rolleri & Prada (2006a, b), Prada *et al.* (2008), Arana *et al.* (2013, 2014), Arana & Mynssen (2015), Morero *et al.* (2014), Ponce & Arana (2016) y Morero *et al.* (2019). Las especies se clasificaron en las siguientes categorías de acuerdo a los siguientes patrones de distribución:

Distribución amplia: elementos con distribución americana, sudamericana, gondwánica y cosmopolita. Por ej. *Athyrium dombeyi* Desv., *Asplenium monanthes* L., *Cystopteris diaphana* (Bory) Bladell. Todas las especies de amplia distribución también se clasificaron en Andino-

pampeana, Austro-brasileña y/o Austral-antártica según los datos de presencia relevados para Argentina y países limítrofes.

Andino-pampeana: elementos que penetran en Argentina a partir de la Cordillera de los Andes y se extienden hacia el sur mediante el arco peripampásico formado por la Cordillera Oriental, Sierras Subandinas y Sierras Pampeanas y que hacia el sur se ve interrumpido en una serie de grupos serranos separados entre sí por grandes extensiones de llanura (Mahuidas en La Pampa, Tandilia y Ventania en Buenos Aires). Por ej. *Melponeme peruviana* (Desv.) A.R. Sm. & R. C. Moran.

Austro-brasileña: elementos de las selvas de la cadena de la costa, del planalto meridional, bosques de Araucaria del sur de Brasil, así como selvas y bosques en galería de los ríos del sistema del Plata y flora de los campos de Brasil y Uruguay incluyendo las serranías de este último. Por ej. *Doryopteris triphylla* (Lam.) Christ.

Austral-antártica: elementos presentes en los bosques andino-patagónicos en Chile y Argentina austral, Patagonia extra-andina e islas del Atlántico Sur. Por ej. *Adiantum chilense* Kaulf. var *chilense*.

Los datos de presencia de las diferentes especies relevadas a campo fueron tabulados de acuerdo a los sitios en los que se encontró el taxón. Luego se estableció la frecuencia de los taxones como la cantidad de sitios de muestreo en los que estuvieron presentes. Finalmente se establecieron rangos de frecuencia para catalogar a las especies en las siguientes categorías: raras (frecuencia de 1 a 3), frecuentes (frecuencia de 4 a 5) y muy frecuentes (frecuencia de 6 a 8).

Por último, se registró el tipo de microhábitat en el que se observó el desarrollo de esporofitos en los diferentes sitios. Los microhábitats del sudeste del sistema de Tandilia que se distinguieron fueron los siguientes (definiciones modificadas a partir de lo descrito para las serranías bonaerenses por Ponce, 1982 y Wraage, 2023) son (Fig. 2):

(a) Roquedales de cumbre (Rocu). Estos microhábitats incluyen: I. Roquedales compuestos por grietas poco profundas con o sin colchón de musgos con suelos de material fino con materia orgánica incorporada de pocos cm de espesor y II. Fisuras sin suelo con escaso

material clástico disgregado. Ambos comparten un régimen de insolación directa durante la mayor parte del día, con suelos expuestos a períodos frecuentes de humedad-sequía y una alta exposición al viento.

(b) Praderas de cumbre (Pr). Estos microhábitats incluyen planicies con suelos con cierto desarrollo que permiten el establecimiento de comunidades dominadas por gramíneas bajas (<15 cm, Ciperáceas y Juncáceas). Suelen ocupar áreas deprimidas y por lo tanto presentan suelos moderadamente húmedos que sufren períodos de desecación a lo largo del año.

(c) Roquedales de ladera (Rola). Estos microhábitats incluyen: I. Interbloques o grietas profundas asociados a los planos de ruptura de las rocas donde se presentan sustratos enriquecidos por materia orgánica, II. Fisuras sin suelo sobre paredes verticales sobre todo en áreas de vertiente rocosa. Estos ambientes presentan un régimen de insolación directa sólo parte del día ya que la proyección de sombra de los bloques de roca o paredes del perfil serrano brindan sombra durante parte del día. Los suelos suelen ser moderadamente húmedos ya que el agua de lluvia que se acumula en la cumbre de las sierras, se infiltra lentamente siguiendo los planos de fisuras de rocas y escurre lateralmente hacia las laderas perdurando esta humedad en las mismas durante largos períodos luego de las lluvias.

(d) Aleros y abrigos de roca expuestos (Al-Abex): los aleros son espacios originados por el desprendimiento de rocas de dimensiones considerables que poseen techos creando lugares donde predomina la luz difusa y/o sombra durante gran parte del día. Los abrigos de roca incluyen pequeños aleros (<25 cm de alto y <15 cm de profundidad) asociados a bloques de ortocuarzitas que sobresalen del plano del terreno y que por diferentes procesos de meteorización manifiestan roquedales donde se acumulan suelos húmedos y son colonizados por briófitos y líquenes. Suelen presentar suelos no saturados con elevado contenido de humedad durante gran parte del año.

(e) Aleros sombríos y cuevas (Al-cue): presentan las mismas características descritas anteriormente, sólo que debido a la extensión del techo y/o a la profundidad del espacio debajo del mismo, son sitios donde no llega la radiación directa.

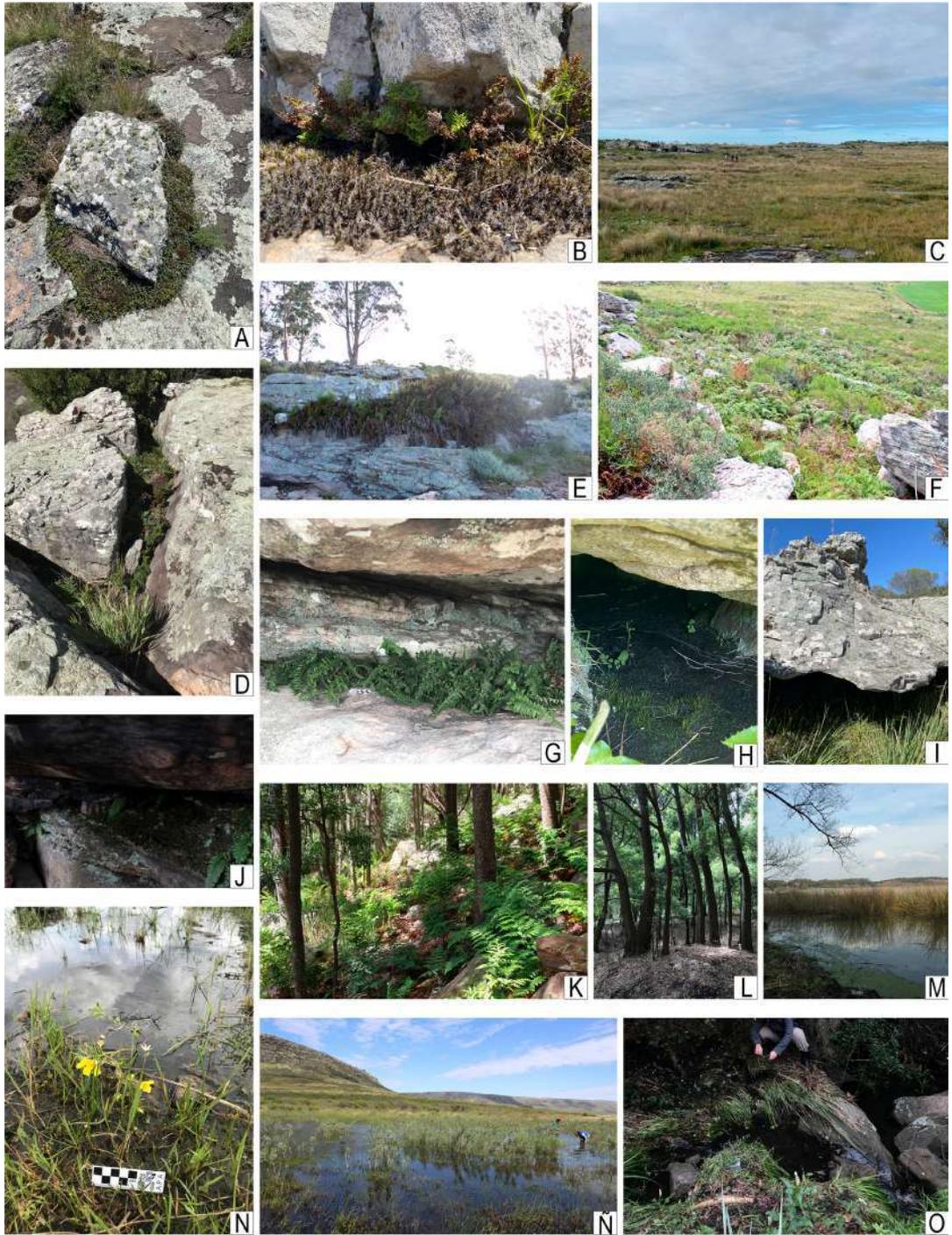


Fig. 2. Microhábitats del sudeste del sistema de Tandilia. **A-B:** Roquedales de cumbre. **C:** Praderas de cumbre. **D-E:** Roquedales de Ladera. **D:** Interbloques o grietas profundas. **E:** Fisuras sin suelo sobre paredes verticales. **F-G:** Aleros y abrigos de roca expuesta. **F:** Abrigos. **G:** Aleros expuestos. **H-J:** Aleros sombríos y cuevas. **K-L:** Bosques de *Acacia melanoxylon*. **M, Ñ:** Lagunas. **N:** Charcos de cima. **O:** Terrazas fluviales.

- Suelen presentar suelos no saturados con elevado contenido de humedad durante gran parte del año.
- (f) Bosques de *Acacia melanoxylon* R. Br. (Bos): estos microhábitats se ubican en áreas de vertiente rocosa y lóbulos de soliflucción con suelos altamente orgánicos y con mayores valores de humedad que aquellos hábitats no invadidos por *A. melanoxylon* (Wraage, 2023). Son ambientes donde predomina la luz difusa que llega al sotobosque a través del canopeo que suele presentar valores de cobertura >80%.
- (g) Cuerpos de agua (Ca): se refiere a lagunas, charcos o lechos de arroyos permanentes o semipermanentes en sectores cuya profundidad no supere los 25 cm de profundidad. El sustrato de estos ambientes varía entre aquellos que presentan fondos fangosos o rocosos surcados por fisuras con depósitos de material orgánico.
- (h) Terrazas fluviales (Tefl): se refiere a albardones de arroyos permanentes o semipermanentes con suelos altamente orgánicos que intercalan entre momentos de saturación (asociados a crecidas en el caudal de los arroyos) y no saturación, aunque con elevado contenido de humedad durante todo el año.

RESULTADOS

Composición de la flora de helechos y licofitas del SE de Tandilia

El presente estudio permitió inventariar la presencia de 21 especies de helechos y una licofita en la región serrana de Balcarce y General Pueyrredon (Tabla 1, Figs. 3 y 4). Esto representa el 51% del total de especies de helechos y licofitas reportadas para el sistema serrano de Tandilia (43 especies, Tabla 1 y 2). Ese valor se incrementa hasta un 73% al comparar la diversidad taxonómica a nivel de familia. Los taxones con mayor número de especies fueron las familias Pteridaceae (7 especies), Dryopteridaceae (3 especies) y Blechnaceae (3 especies) (Tabla 1) coincidiendo con las familias más diversas presentes en las sierras bonaerenses (Tabla 2).

Composición de la afinidad florística de la flora de helechos y licofitas del SE de Tandilia en relación a las sierras bonaerenses

La presente revisión de helechos y licofitas de las sierras bonaerenses evidencia una fuerte

presencia de elementos andino-pampeanos en los sistemas de Tandilia y Ventania (>60%) (Tabla 2, Fig. 5). Las especies de distribución amplia, representan entre un 38 y un 44% de los taxones presentes en Ventania y Tandilia (respectivamente). Si se excluye del análisis a las especies de amplia distribución, se destaca que existe una disminución en el porcentaje de elementos austral-antárticos y Andino-pampeanos en un “gradiente” Ventana >Tandilia >SE de Tandilia. Por otro lado, los elementos austro-brasileños se incrementan desde Ventana a Tandilia y el SE de Tandilia.

Frecuencia y distribución de los taxones relevados en el SE de Tandilia

El análisis de frecuencia y distribución de especies de helechos y licofitas en el sudeste de Tandilia (Tabla 1) revela que 8 especies son raras (frecuencias 1 a 3): *Isoetes* sp., *Asplenium ulbrichtii* Rosenst., *Elaphoglossum gayanum* (Fée) T. Moore, *Cheilanthes hieronymi* Herter, *Adiantum poiretii* Wikstr., *Parablechnum cordatum* (Desv.) Gasper & Salino, *Pleopeltis pinnatifida* Gillies ex Hook. & Grev., *Gastoniella chaerophylla* (Desv.) Li Bing Zhang & Liang Zhang.; 5 especies son frecuentes (frecuencias 4 a 5): *Polystichum montevidense* (Spreng.) Rosenst., *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia*, *Haukia crotalophoroides* (Walter) Li Bing Zhang & Liang Zhang, *Azolla filiculoides* Lam., *Pteridium esculentum* (G. Forst.) Cockayne var. *arachnoideum*, y 9 especies son muy frecuentes (frecuencias 6 a 8): *Anemia tomentosa* (Savigny) Sw. var. *tomentosa*, *Blechnum auriculatum* Cav., *Blechnum laevigatum* Cav., *Serpocaulon lasiopus* (Klotzsch) A.R. Sm., *Adiantum chilense* var. *chilense*, *Adiantum raddianum* C. Presl, *Rumohra ponceana* Arana, Luna & Giudice, *Doryopteris triphylla*, *Woodsia montevidensis* (Spreng.) Hieron.

La comparación de la riqueza de helechos y licofitas en diferentes microhábitats permite clasificarlos en aquellos que albergan valores altos, medios y bajos. Los aleros y abrigos de roca expuestos (Al-Abex), los aleros sombríos y cuevas (Alcu), así como roquedales de ladera (Rola) presentan los valores más altos de riqueza de helechos y licofitas (>8 especies). Le siguen los roquedales de cumbre (Rocu), terrazas fluviales (Tef) y Bosques de *Acacia melanoxylon* (Bos) con 6-5 especies y finalmente las praderas de cumbre y cuerpos de agua albergan la menor riqueza de

Tabla 1. Listado de especies por familia relevadas y distribución por áreas de muestreo. Referencias= Dif: Sierra de los Difuntos; Frec: frecuencia de aparición; LBr: Sierra La Brava; LP: Reserva Laguna de los Padres; Pai: Reserva Natural Patiti; SP1: Sierra de los Padres 1; SP2: Sierra de los Padres 2; Vig: Sierra La Vigilancia; Vol: Sierra el Volcán. La frecuencia de aparición (Frec) como la sumatoria de áreas en las que se encontró al taxón.

Familia	Frecuencia	Especie	LP	SP1	SP2	Pai	Dif	LBr	Vig	Vol	Afinidad biogeográfica
Anemiaceae	6	<i>Anemia tomentosa</i> (Savigny) Sw. var. <i>tomentosa</i>			X	X	X	X	X	X	Austrobrasileña
Aspleniaceae	3	<i>Asplenium ulbrichtii</i> Rosent.			X			X	X		Austrobrasileña
Blechnaceae	8	<i>Blechnum auriculatum</i> Cav.	X	X	X	X	X	X	X	X	Austrobrasileña
Blechnaceae	6	<i>Blechnum laevigatum</i> Cav.			X	X	X	X	X	X	Austrobrasileña
Blechnaceae	2	<i>Parablechnum cordatum</i> (Desv.) Gasper & Salino						X	X		Austral-antártica y andino- pampeana
Dennstaedtiaceae	5	<i>Pteridium esculentum</i> (G. Forst.) Cockayne var. <i>arachnoideum</i>			X	X	X	X	X	X	Americana, andino-pampeana y austrobrasileña
Dryopteridaceae	2	<i>Elaphoglossum gayanum</i> (Fée) T. Moore			X				X		Andino-pampeana y austrobrasileña
Dryopteridaceae	4	<i>Polystichum montevidense</i> (Spreng.) Rosent.			X	X	X	X	X		Andino-pampeana
Dryopteridaceae	7	<i>Rumohra ponceana</i> Arana, Luna & Giudice		X	X	X	X	X	X	X	Endémica
Isoetaceae	1	<i>Isoetes</i> sp.							X		Sin determinar
Ophioglossaceae	4	<i>Haukia crotalophoroides</i> (Walter) Li Bing Zhang & Liang Zhang			X	X	X	X	X		Americana, andino-pampeana y austrobrasileña
Polypodiaceae	2	<i>Pleopeltis pinnatifida</i> Gillies ex Hook. & Grev.						X	X		Andino-pampeana
Polypodiaceae	6	<i>Serpocaulon lasiopus</i> (Klotzsch) A.R. Sm.			X	X	X	X	X	X	Andino-pampeana
Pteridaceae	6	<i>Adiantum chilense</i> Kaulf. var. <i>chilense</i>			X	X	X	X	X	X	Austral-antártica
Pteridaceae	2	<i>Adiantum poiretii</i> Wikstr.			X			X			Andino-pampeana
Pteridaceae	6	<i>Adiantum reddianum</i> C. Presl			X	X	X	X	X	X	Austrobrasileña y andino-pampeana
Pteridaceae	2	<i>Cheilanthes hieronymi</i> Herter			X			X	X		Austrobrasileña y andino-pampeana
Pteridaceae	7	<i>Donyopteris triphylla</i> (Lam.) Christ		X	X	X	X	X	X	X	Austrobrasileña
Pteridaceae	3	<i>Gastoniella chaerophylla</i> (Desv.) Li Bing Zhang & Liang Zhang			X			X	X		Americana, andino-pampeana y austrobrasileña
Pteridaceae	4	<i>Pellaea ternifolia</i> (Cav.) Link subsp. <i>ternifolia</i>			X	X	X	X	X	X	Americana, andino-pampeana y austrobrasileña
Salviniaceae	5	<i>Azolla filiculoides</i> Lam.		X	X	X	X	X	X		Americana, andino-pampeana y austrobrasileña y austral-antártica
Woodsiaceae	7	<i>Woodsia montevidensis</i> (Spreng.) Hieron.		X	X	X	X	X	X	X	Andino-pampeana



Fig. 3. Ejemplares de especies por familia relevadas. **A:** Isoetaceae. *Isoetes* sp. **B:** Anemiaceae. *Anemia tomentosa* var. *tomentosa*. **C:** Aspleniaceae. *Asplenium ulbrichtii*. **D-F:** Blechnaceae. **D:** *Blechnum laevigatum*. **E:** *B. auriculatum*. **F:** *Parablechnum cordatum*. **G-I:** Dryopteridaceae. **G:** *Elaphoglossum gayanum*. **H:** *Polystichum montevidense*. **I:** *Rumohra ponceana*. **J:** Dennstaedtiaceae. *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*.



Fig. 4. Ejemplares de especies por familia relevadas. **A:** Ophioglossaceae. *Haukia crotalophoroides*. **B-C:** Polypodiaceae. **B:** *Pleopeltis pinnatifida*. **C:** *Serpocaulon lasiopus*. **D-I:** Pteridaceae. **D:** *Pellaea ternifolia* subsp. *ternifolia*. **E:** *Cheilanthes hieronymi*. **F:** *Doryopteris triphylla*. **G:** *Gastoniella chaerophylla*. **H:** *Adiantum raddianum*. **I:** *A. chilense* var. *chilense*. **J:** Salviniaceae. *Azolla filiculoides*. **K:** Woodsiaceae. *Woodsia montevidensis*.

Tabla 2. Helechos y licofitas reportados para Tandilia y Ventana.

Familia	Especie	Tandilia	Ventana	Afinidad biogeográfica
Lycopodiaceae	<i>Austrolycopodium erectum</i> (Phil.) Holub	X	X	Austrobrasileña, andino-pampeana, austral-antártica
Lycopodiaceae	<i>Phlegmariurus saururus</i> (Lam.) B. Ølfg.	X	X	Gondwánica, andino-pampeana
Selaginellaceae	<i>Selaginella peruviana</i> (Milde) Hieron.	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Anemiaceae	<i>Anemia tomentosa</i> (Savigny) Sw. var. <i>tomentosa</i>	X	X	Austrobrasileña
Aspleniaceae	<i>Asplenium gilliesii</i> Hook.	X	X	Americana, andino-pampeana
Aspleniaceae	<i>Asplenium monanthes</i> L.	X	X	América y África, andino-pampeana, austrobrasileña
Aspleniaceae	<i>Asplenium resiliens</i> Kunze	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Aspleniaceae	<i>Asplenium ulbrichtii</i> Rosenst.	X	X	Austrobrasileña
Athyriaceae	<i>Athyrium dombeyi</i> Desv.	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Blechnaceae	<i>Parablechnum cordatum</i> (Desv.) Gasper & Salino	X	X	Austral-antártica, andino-pampeana
Blechnaceae	<i>Blechnum auriculatum</i> Cav.	X	X	Austrobrasileña
Blechnaceae	<i>Blechnum hastatum</i> Kaulf.	X	X	Andino-pampeana, austral-antártica
Blechnaceae	<i>Blechnum laevigatum</i> Cav.	X	X	Austrobrasileña
Blechnaceae	<i>Austroblechnum penna-marina</i> (Poir.) Gasper & V.A.O. Dittrich	X	X	Austral-antártica, andino-pampeana
Cystopteridaceae	<i>Cystopteris diaphana</i> (Bory) Blasdel	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Dennstaedtiaceae	<i>Hypolepis rugosula</i> (Labill.) J. Sm. ssp. <i>poeppigiana</i> (Mett.) Schwartzb. & J. Prado	X	X	Austral-antártica, andino-pampeana
Dennstaedtiaceae	<i>Pteridium esculentum</i> (G. Forst.) Cockayne subsp. <i>arachnoidum</i> (Kaulf.) Thomson	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Dennstaedtiaceae	<i>Mucura globulifera</i> (Poir.) L.A. Triana & Sundue	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum gavanum</i> (Fée) T. Moore	X	X	Andino-pampeana, austrobrasileña
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum lorentzii</i> (Hieron.) Christ.	X	X	Andino-pampeana
Dryopteridaceae	<i>Polystichum montevidense</i> (Spreng.) Rosenst.	X	X	Andino-pampeana
Dryopteridaceae	<i>Polystichum plicatum</i> (Poepp. ex Kunze) Hickens ex Hosseus	X	X	Austral-antártica
Dryopteridaceae	<i>Rumohra ponceana</i> Arana, Luna & Giudice	X	X	endémica
Equisetaceae	<i>Equisetum giganteum</i> L.	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña, austral-antártica
Marsileaceae	<i>Marsilea ancylopoda</i> A. Braun	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña, austral-antártica
Marsileaceae	<i>Pilularia americana</i> A. Braun	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña, austral-antártica
Ophioglossaceae	<i>Haukia crotalophoroides</i> (Walter) Li Bing Zhang & Liang Zhang	X	X	Americana, andino-pampeana, austral-antártica

Familia	Especie	Tandilia	Ventania	Afinidad biogeográfica
Lycopodiaceae	<i>Austrolycopodium erectum</i> (Phil.) Holub	X		Austrobrasileña, andino-pampeana, austral-antártica
Lycopodiaceae	<i>Phlegmariurus saururus</i> (Lam.) B. Øllg.	X	X	Gondwánica, andino-pampeana
Selaginellaceae	<i>Selaginella peruviana</i> (Milde) Hieron.	X		Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Anemiaceae	<i>Anemia tomentosa</i> (Savigny) Sw. var. <i>tomentosa</i>	X	X	Austrobrasileña
Aspleniaceae	<i>Asplenium gilliesii</i> Hook.	X	X	Americana, andino-pampeana
Aspleniaceae	<i>Asplenium monanthes</i> L.	X	X	América y África, andino-pampeana, austrobrasileña
Aspleniaceae	<i>Asplenium resiliens</i> Kunze	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Aspleniaceae	<i>Asplenium ulbrichtii</i> Rosenst.	X	X	Austrobrasileña
Athyriaceae	<i>Athyrium dombeyi</i> Desv.	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Blechnaceae	<i>Parablechnum cordatum</i> (Desv.) Gasper & Salino	X	X	Austral-antártica, andino-pampeana
Blechnaceae	<i>Blechnum auriculatum</i> Cav.	X	X	Austrobrasileña
Blechnaceae	<i>Blechnum hastatum</i> Kaulf.	X	X	Andino-pampeana, austral-antártica
Blechnaceae	<i>Blechnum laevigatum</i> Cav.	X	X	Austrobrasileña
Blechnaceae	<i>Austroblechnum penna-marina</i> (Poir.) Gasper & V.A.O. Dittrich	X	X	Austral-antártica, andino-pampeana
Cystopteridaceae	<i>Cystopteris diaphana</i> (Bory) Blasdel	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Dennstaedtiaceae	<i>Hypolepis rugosula</i> (Labill.) J. Sm. ssp. <i>poepigiana</i> (Mett.) Schwartsb. & J. Prado	X	X	Austral-antártica, andino-pampeana
Dennstaedtiaceae	<i>Pteridium esculentum</i> (G.Forst.) Cockayne subsp. <i>arachnoidum</i> (Kaulf.) Thomson	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Dennstaedtiaceae	<i>Mucra globulifera</i> (Poir.) L.A. Triana & Sundue	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum gayanum</i> (Fée) T. Moore	X	X	Andino-pampeana, austrobrasileña
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum lorentzii</i> (Hieron.) Christ.	X	X	Andino-pampeana
Dryopteridaceae	<i>Polystichum montevidense</i> (Spreng.) Rosenst.	X	X	Andino-pampeana
Dryopteridaceae	<i>Polystichum plicatum</i> (Poepp. ex Kunze) Hicklen ex Hosseus	X	X	Austral-antártica
Dryopteridaceae	<i>Rumohra ponceana</i> Arana, Luna & Giudice	X	X	endémica
Equisetaceae	<i>Equisetum giganteum</i> L.	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña, austral-antártica
Marsileaceae	<i>Marsilea ancylopoda</i> A. Braun	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña, austral-antártica
Marsileaceae	<i>Pilularia americana</i> A. Braun	X	X	Americana, andino-pampeana, austrobrasileña, austral-antártica

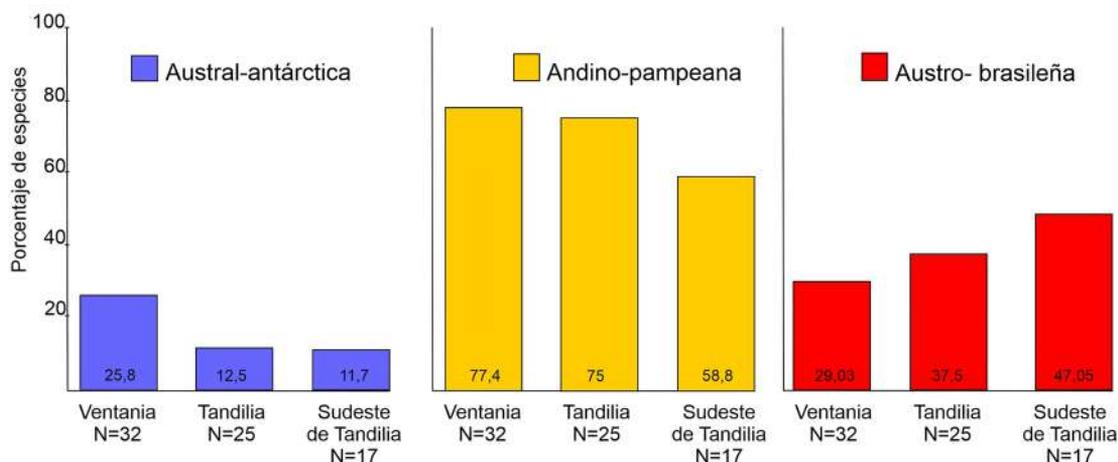


Fig. 5. Comparación en las afinidades biogeográficas de los taxones de los sistemas serranos bonaerenses en comparación con el sector sudeste de Tandilia. Abreviaturas= N: número total de especies citadas para Ventania y Tandilia, y registradas en este trabajo para el SE de Tandilia, excluyendo a las especies de amplia distribución.

helechos y licofitas (2 especies). Cabe destacar que los sitios de menor riqueza pteridofítica (Pr y Ca) presentan un bajo nivel de redundancia taxonómica con otros microhábitats del perfil serrano (Fig. 6).

Síntesis de la flora de helechos y licofitas del SE de Tandilia y clave para la identificación de especies

Licofita. Isoetaceae

1. Isoetes sp.

Origen: Este género se distribuye por todo el mundo. En Argentina se encuentran citadas nueve especies registradas a lo largo de todo el país. Esta es la primera cita del género *Isoetes* L. para las sierras bonaerenses.

Hábitat y ecología: Planta palustre. Se pueden encontrar en cuerpos de agua semipermanentes en las sierras (Tabla 3).

Observaciones: Estas plantas fueron observadas con muy baja frecuencia en las sierras en pequeñas grietas expuestas al sol. Sin embargo, debe considerarse que las especies de este género suelen pasar inadvertidas y confundirse con otras ciperáceas, juncáceas y gramíneas. Junto con *Phlegmariurus saururus* B. Øllg. y *Selaginella peruviana* (Milde) Hieron. son las únicas 3 licofitas citadas para Tandilia hasta el momento.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia,

cumbre, 37° 52' 32.56"S, 58° 1' 10.13"O, 13-X-2023, Sottile & O'Connor 01015 (MDQ).

Helechos. Anemiaceae

2. Anemia tomentosa (Savigny) Sw. var. tomentosa

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. En Argentina puede ser encontrado en el noroeste, nordeste y centro del país. Se encuentra registrada para los Sistemas Serranos de Tandilia y Ventania (Tabla 2).

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Crece en roquedales de ladera, y en aleros y grietas de la cima de las sierras, en zonas con exposición directa al sol (Tabla 3).

Ubicación: En las sierras estudiadas se observaron con frecuencia formando densas poblaciones en áreas con poca vegetación, donde predomina el suelo desnudo dominado por roca. En ocasiones fue observada en áreas de la sierra donde también se puede encontrar *Doryopteris triphylla* y *Woodsia montevidensis*, aunque en micrositios distintos (Fig. 6).

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 26" S, 57° 47' 38" O, 8-III-2024, O'Connor 01016 (MDQ); idem, 37° 56' 41" S, 57° 46' 48" O, 4-IX-2018, Burgos-Herrera 00638 (MDQ); idem, *Partido de Balcarce*, Sierra el



Fig. 6. Resumen de los principales patrones de preferencia de microambientes por parte de helechos y licofitos del sudeste de Tandilia. Los gradientes de disponibilidad hídrica se conforman por la interacción de los parámetros microambientales desarrollados en la sección donde se describieron los microambientes.

Volcán, 37° 50' 14" S, 58° 04' 29" O, 1-VIII-2009, Sottile 00358, 00359, 00360 (MDQ).

Aspleniaceae

3. *Asplenium ulbrichtii* Rosenst.

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, el sur de Brasil, Paraguay y Uruguay. En Argentina puede ser encontrado desde el nordeste del país hasta la provincia de Buenos Aires. Se encuentra registrada para los Sistemas de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Epífita, saxícola, habiendo sido observado siempre en su hábito terrestre y saxícola dentro de la zona de estudio. Crece en la cima de las sierras en cercanía a la ladera, en aleros muy sombríos y húmedos (Tabla 3).

Observaciones: Se encontraron solamente ejemplares aislados, en zonas de cumbre plana con muy baja abundancia de vegetación donde predomina el suelo desnudo dominado por roca y sus ejemplares, así como la vegetación prosperan en parches pequeños debajo de aleros o en la entrada de cuevas pequeñas donde se concentra la humedad.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 27.8" S 57° 47' 37.9" O, 4-XI-2018, Sottile 00899 (MDQ).

Blechnaceae

4. *Blechnum auriculatum* Cav.

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Brasil y Uruguay. En Argentina se encuentra registrada para gran parte del país, desde la Patagonia hasta las Yungas del norte del país. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Puede hallarse en una gran variedad de hábitats, desde bosques sombríos a aleros expuestos con alta radiación solar (Tabla 2).

Observaciones: Se observa con alta frecuencia en las sierras. En las zonas expuestas al sol se observaron formando densas poblaciones, mientras que en áreas sombrías se encontraron en menor abundancia. En ocasiones fue observada en áreas de las sierras expuestas donde también se puede encontrar a *Rumohra ponceana*.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 26" S, 57° 47' 38" O, 8-III-2024, O'Connor 01019 (MDQ); ídem, 37° 56' 27.8" S 57° 47' 37.9" O, 27-XII-2021, Wraage 00756 y 00827 (MDQ); ídem, 37° 56' 28.1" S 57° 47' 33.83" O, 4-IX-2018, Sottile & Burgos-Herrera, 00930 (MDQ); ídem, *Partido de Balcarce*, Sierra

Tabla 3. Distribución de especies colectadas en el SE de Tandilia de acuerdo al tipo de microhábitat. Referencias= Al-Abex: Aleros expuestos; Al-cu: Aleros sombríos; Bos: Bosques; Ca: cuerpos de agua; Pr: Praderas de cumbre; Rocu: Roquedales de cumbre; Rola: Roquedales de ladera; Tefl: Terrazas fluviales. Los microhábitats se ordenaron siguiendo un gradiente de disponibilidad hídrica y la lista de especies del SE de Tandilia se ordenó de arriba hacia abajo considerando las especies con mayor frecuencia en microhábitats de mayor a menor déficit hídrico.

Familia	Especie	Rocu	Pr	Rola	Al-Abex	Bos	Al- cu	Tefl	Ca
Pteridaceae	<i>Doryopteris triphylla</i> (Lam.) Christ	X							
Pteridaceae	<i>Cheilanthes hieronymi</i> Herter	X							
Anemiaceae	<i>Anemia tomentosa</i> (Savigny) Sw. var. <i>tomentosa</i>	X	X						
Woodsiaceae	<i>Woodsia montevidensis</i> (Spreng.) Hieron.	X		X	X				
Dryopteridaceae	<i>Elaphoglossum gayanum</i> (Fée) T. Moore			X	X				
Dennstaedtiaceae	<i>Pteridium esculentum</i> (G. Forst.) Cockayne var. <i>arachnoideum</i>	X		X	X				
Pteridaceae	<i>Pellaea ternifolia</i> (Cav.) Link subsp. <i>ternifolia</i>	X			X		X		
Ophioglossaceae	<i>Haukia crotalophoroides</i> (Walter) Li Bing Zhang & Liang Zhang		X						
Blechnaceae	<i>Parablechnum cordatum</i> (Desv.) Gasper & Salino				X				
Dryopteridaceae	<i>Rumohra ponceana</i> Arana, Luna & Giudice			X	X	X			
Polypodiaceae	<i>Serpocaulon lasiopus</i> (Klotzsch) A.R. Sm.			X	X		X		
Blechnaceae	<i>Blechnum auriculatum</i> Cav.			X	X	X		X	
Blechnaceae	<i>Blechnum laevigatum</i> Cav.			X			X	X	
Dryopteridaceae	<i>Polystichum montevidense</i> (Spreng.) Rosenst.			X	X	X	X		
Polypodiaceae	<i>Pleopeltis pinnatifida</i> Gillies ex Hook. & Grev.				X		X		
Pteridaceae	<i>Adiantum chilense</i> Kaulf. var. <i>chilense</i>					X	X	X	
Pteridaceae	<i>Adiantum raddianum</i> C. Presl					X	X	X	
Pteridaceae	<i>Gastoniella chaerophylla</i> (Desv.) Li Bing Zhang & Liang Zhang						X	X	
Aspleniaceae	<i>Asplenium ulbrichtii</i> Rosenst.						X		
Pteridaceae	<i>Adiantum poiretii</i> Wikstr.							X	
Salviniaceae	<i>Azolla filiculoides</i> Lam.								X
Isoetaceae	<i>Isoetes</i> sp.								X

La Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 27-XI-2018, Suárez et al. 00376 (MDQ).

5. *Blechnum laevigatum* Cav.

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Brasil y Uruguay. En Argentina puede encontrarse en el centro y norte del país. Se encuentra registrada

para el sistema serrano de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Puede hallarse en diversos micrositios (Tabla 3) en general siempre más expuestos al sol.

Observaciones: Se observan frecuentemente en las sierras, sin embargo, no suelen formar poblaciones tan densas como *B. auriculatum*.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 27-XI-2018, Suárez *et al.* 00377 y 00378 (MDQ); *idem*, *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 27.8" S, 57° 47' 37.9" O, 27-XII-2021, Wraage 00783 (MDQ).

6. *Parablechnum cordatum* (Desv.) Gasper & Salino

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina y Chile hasta Venezuela. En Argentina se la encuentra en una gran variedad de regiones, desde el noroeste, centro, sur del país y en las islas Malvinas. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Saxícola. Puede hallarse en aleros de la cima de las sierras con baja exposición solar (Tabla 3).

Observaciones: Se observaron baja cantidad de poblaciones en zonas con alta densidad de vegetación. Fue hallada en micrositios junto a *Elaphoglossum gayanum*. Cabe destacar que la determinación del ejemplar se basó en la clave disponible en Ponce & Arana (2016). Algunos autores consideran que *P. cordatum* es un complejo de especies (Wal *et al.*, 2021) del que separan entre otras a *Parablechnum chilense* (Kaulf.) Gasper & Salino a partir de caracteres microscópicos de las esporas, el esporangio, células basales que unen el esporangio al pedicelo (roseta) y el largo del pedicelo. Un análisis preliminar del tamaño de esporas, pedicelo y roseta sugiere que los ejemplares colectados en el área de estudio son compatibles con lo que Wal *et al.*, (2021) determinan como *P. chilense*. Estos resultados son coincidentes con lo reportado por De la Sota *et al.* (1998), que mencionan la presencia de *P. chilense* (= *Blechnum chilense* (Kaulf.) Mett.) para las Sierras de Buenos Aires.

Material estudiado: Coordinadas: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 1-X-2023, O'Connor *et al.* 01048 (MDQ).

Dennstaedtiaceae

7. *Pteridium esculentum* (G.Forst.) Cockayne subsp. *arachnoideum* (Kaulf.) Thomson

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina,

Brasil, Paraguay, Bolivia, Perú, Ecuador, hasta México. En Argentina puede encontrarse desde el norte del país en las Yungas, hasta la provincia de Buenos Aires. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia.

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Puede encontrarse en la ladera y en la cima, en roquedales expuestos al sol (Tabla 3).

Observaciones: Suele observarse con frecuencia intermedia en las sierras formando grandes y densas matas. En ocasiones estas densas matas se observan secas.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra Paititi, 37° 55' 35" S, 57° 49' 11" O, 23-V-2018, O'Connor 00435 (MDQ).

Dryopteridaceae

8. *Elaphoglossum gayanum* (Fée) T. Moore

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina y Chile. En Argentina puede encontrarse desde el norte del país en las Yungas, hasta la provincia de Buenos Aires. Se encuentra registrada para los sistemas serranos de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Saxícola. Se encuentra en aleros tanto en la ladera como en la cima de las sierras por lo general expuestos al sol al menos en algún momento del día (Tabla 3).

Observaciones: No suele encontrarse con mucha frecuencia en las sierras estudiadas.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 27-XI-2018, Suárez *et al.* 00400 (MDQ).

9. *Polystichum montevidense* (Spreng.) Rosenst.

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Brasil, Uruguay y Perú. En Argentina se lo puede encontrar desde el noroeste hasta el centro del país. Se encuentra registrada para los sistemas serranos de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Se encuentra en una gran variedad de micrositios (Tabla 3), más frecuentemente en sitios sombríos.

Observaciones: No suele hallarse con alta frecuencia en las sierras. Se observan en sitios con poca densidad de vegetación y un gran porcentaje de suelo desnudo.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la

Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 1-VIII-2009, Sottile 00427 y 00428 (MDQ); ídem, 27-XI-2018, Suárez et al. 00430 (MDQ); ídem, 1-VIII-2013, Sottile 00900 (MDQ); ídem, 1-X-2013, Sottile 00901 (MDQ); ídem, *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 26.15" S, 57° 47' 37.42" O), 4-IX-2018, O'Connor & Burgos-Herrera 00902 (MDQ).

10. **Rumohra poncena** Arana, Luna & Giudice

Origen: Nativo/Endémico. Se distribuye en Argentina, en los sistemas serranos de Ventania y Tandilia.

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Puede encontrarse en bosques semiabiertos, aunque se observa en mayor abundancia en aleros con una alta exposición solar (Tabla 3).

Observaciones: Se encuentra con mucha frecuencia en las sierras estudiadas formando densas poblaciones, siendo esta probablemente la especie de helecho más abundante del extremo sudoriental del Sistema Serrano de Tandilia. Los sitios donde se ubica suelen tener una baja densidad de vegetación, con un alto porcentaje de suelo desnudo dominado por roca. Históricamente se determinó a las poblaciones de este helecho como *R. adiantiformis*. Sin embargo, Arana et al (2021) señalan a los individuos de Tandilia y Ventania como una nueva especie (*R. poncena*) que se diferencian de *R. adiantiformis* ya que *R. poncena* presenta ejemplares con tamaños del esporofito menores, pelos glandulares capitados conspicuos en los márgenes de los peciolos y escamas del rizoma.

Material de estudio: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 26" S, 57° 47' 38" O, 8-III-2024, O'Connor 01017 (MDQ).

Ophioglossaceae

11. **Haukia crotalophoroides** (Walter) Li Bing Zhang & Liang Zhang

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Brasil, Uruguay, Paraguay, Chile, Bolivia, Perú, Venezuela, Colombia, América Central y el Sudeste de Estados Unidos. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia.

Hábitat y ecología: Terrestre. Se lo encuentra en pequeñas praderas en la cima de las sierras con plena exposición solar (Tabla 3).

Observaciones: Se encuentran con una

frecuencia intermedia en las sierras estudiadas. Las praderas en donde se encuentran suelen destacarse por la dominancia de briofitas. Históricamente se reconoció la presencia de *Ophioglossum crotalophoroides* Walter para el sistema de Tandilia, sin embargo, Zang & Zang (2022) a partir de análisis moleculares, morfológicos, ecológicos y biogeográficos proponen dividir el género *Ophioglossum* en 4 géneros diferentes y *O. crotalophoroides* es reemplazado por *H. crotalophoroides*.

Material de estudio: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 27" S, 57° 47' 41" O, 4-IX-2018, Sottile 00409 (MDQ).

Polypodiaceae

12. **Pleopeltis pinnatifida** Gillies ex Hook. & Grev.

Origen: Nativo. Se distribuye en Paraguay y en Argentina desde el norte hasta el centro del país. Se encuentra registrada para los sistemas serranos de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Saxícola, epífita o epipétrica. Se encuentran tanto en aleros sombríos como expuestos al sol (Tabla 3).

Observaciones: Se observan en baja frecuencia en las sierras estudiadas en zonas con baja densidad de vegetación dominado por roca.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 27-XI-2018, Suárez et al. 00422 y 00423 (MDQ).

13. **Serpocaulon lasiopus** (Klotzsch) A.R. Sm.

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Bolivia y Perú. En Argentina se encuentra desde el noroeste hasta el centro del país. Se encuentra registrada para los sistemas serranos de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Epífitas, epipétrica, saxícola, habiendo sido observada siempre en su hábito saxícola y epipétrica en el área de estudio. Se encuentran tanto en aleros sombríos como expuestos al sol (Tabla 3).

Observaciones: Se observa con alta frecuencia en las sierras estudiadas en zonas con baja o nula vegetación dominadas por roca.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Difuntos, 37° 53' 46" S, 57° 50' 32.55" O,

1-VIII-2009, Sottile 00421 (MDQ); ídem, Sierra Paititi, 37° 55' 35" S, 57° 49' 11" O, 24-VIII-2014, Sottile 00422 (MDQ); ídem, Sierra de los Padres, Chacra "Los Blanco", 37° 56' 24.3" S, 57° 47' 49.7" O, 3-XII-2021, Wraage *et al.* 00757 (MDQ); ídem, *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 27-XI-2018, Suárez *et al.* 00446 (MDQ).

Pteridaceae

14. *Adiantum chilense* Kaulf. **var. chilense**

Origen: Nativo. Se distribuye en Chile y Argentina. En Argentina puede encontrarse desde la Patagonia, hasta La Pampa y Buenos Aires. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Se encuentra en aleros sombríos y terrazas fluviales (Tabla 3).

Observaciones: Se encuentra con alta frecuencia en las sierras estudiadas, aunque en baja abundancia.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra Paititi, 37° 55' 35" S, 57° 49' 11" O, 24-VIII-2013, Sottile 00344 (MDQ).

15. *Adiantum poiretii* Wikstr.

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, encontrándose en la precordillera y las sierras Pampeanas. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Se observa en terrazas fluviales con baja o nula exposición solar (Tabla 3).

Observaciones: Se observó con muy baja frecuencia en las sierras de estudio.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra La Brava, 37° 52' 32" S, 57° 59' 29" O, 1-IX-2009, Sottile 00346 (MDQ).

16. *Adiantum raddianum* C. Presl

Origen: Nativo. Se distribuye desde Argentina, Uruguay, Paraguay, hasta México. En Argentina se puede encontrar desde el norte hasta el centro del país. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Terrestre, saxícola. Se encuentra en aleros sombríos y terrazas fluviales (Tabla 3).

Observaciones: Se encuentra con alta frecuencia en las sierras estudiadas, aunque en baja abundancia.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, (37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 1-VIII-2009, Sottile 00349 (MDQ); ídem, *Partido de General Pueyrredon*, Sierra Paititi, 37° 55' 35" S, 57° 49' 11" O, 10-X-2015, Sottile 00350 y 00637 (MDQ).

17. *Cheilanthes hieronymi* Herter

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Brasil y Uruguay. En Argentina se puede encontrar en las provincias de Catamarca, Mendoza, La Pampa y Buenos Aires. Se encuentra registrada para los sistemas serranos de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Saxícola. Se observa en áreas dominadas por roca expuestas al sol en la cima de las sierras junto a otras plantas formando agrupaciones densas discretas (Tabla 3). Los ejemplares de *C. hieronymi* así como las plantas saxícolas acompañantes prosperan en diaclasas con leve desarrollo de suelo en posiciones de la cumbre donde se concentra la humedad.

Observaciones: Se observó con muy baja frecuencia en las sierras y en poca abundancia.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, (37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 3-V-2019, O'Connor 00451 (MDQ); ídem, *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, Chacra "Los Blanco", 37° 56' 24.3" S, 57° 47' 49.7" O, 3-XII-2021, Wraage *et al.* 00702 (MDQ).

18. *Doryopteris triphylla* (Lam.) Christ

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Brasil, Uruguay, Paraguay. En Argentina se puede encontrar desde el noroeste del país hasta la provincia de Buenos Aires. Se encuentra registrada sólo para el sistema serrano de Tandilia.

Hábitat y ecología: Saxícola. Se observa en áreas dominadas por roca expuestas al sol en la cima de las sierras (Tabla 3).

Observaciones: Una de las especies más frecuentes de encontrar en la zona de estudio. Suele observarse en la misma zona que *Woodsia montevidensis*. Forma pequeñas poblaciones estables en varios roquedales dentro de una misma área.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 26" S, 57° 47' 38" O, 8-III-2024, O'Connor 01020 (MDQ); ídem, *Partido de General Pueyrredon*, Sierra Paititi, 37° 55' 35" S, 57° 49' 11" O, 24-VIII-2014, Sottile 00393 (MDQ); ídem, Estancia "El Abrojo", 37° 56' 6.7" S, 57° 48' 49.6" O, 27-XII-2021, Wraage et al. 00726 (MDQ).

19. **Gastoniella chaerophylla** (Desv.) Li Bing Zhang & Liang Zhang

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Brasil, Uruguay, Paraguay, Bolivia hasta México. En Argentina se encuentra en las yungas del norte, en el nordeste y en la región chaqueña hasta provincia de Buenos Aires, donde se encuentra en el Delta y costa del Río de la Plata y alcanza el límite de su distribución austral en las serranías bonaerenses de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Saxícola. Se observa en aleros sombríos en la cumbre de las sierras (Tabla 3) con un alto grado de humedad.

Observaciones: Se encontró en muy baja frecuencia y abundancia en las sierras de estudio. Los aleros en los que se encontraba también contenían diversas briofitas.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 27-XI-2018, Sottile et al. 00903 (MDQ).

20. **Pellaea ternifolia** (Cav.) Link subsp. **ternifolia**

Origen: Nativo. Se distribuye en Argentina, Bolivia, Perú, Ecuador, Venezuela, México hasta el sur de Estados Unidos. En Argentina se encuentra en las regiones andino-pampeanas. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia.

Hábitat y ecología: Saxícola. Se observa principalmente en microsítios rocosos con mediana exposición al sol, aunque también fue registrada en aleros sombríos (Tabla 3).

Ubicación: Se encontró frecuentemente en las sierras estudiadas, sin embargo, en general se observa en baja abundancia.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra Paititi, 37° 55' 35" S, 57° 49' 11" O, 24-VIII-2014, Sottile 00415 (MDQ); ídem, *Partido*

de Balcarce, Sierra la Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, Suárez et al. 00417 (MDQ).

Salviniaceae

21. **Azolla filiculoides** Lam.

Origen: Se distribuye por toda América y ha sido introducida en Europa. En Argentina se puede encontrar en todo el país. Se encuentra registrada para los sistemas serranos de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Acuática flotante. Se observa en cuerpos de agua (Tabla 3) pudiendo llegar a formar grandes carpetas junto a otras especies de hepáticas y angiospermas.

Observaciones: Se encontró en una frecuencia intermedia en las sierras estudiadas. Debe considerarse que no todas las sierras visitadas poseen cuerpos de agua permanentes y esto limitaría su distribución en la zona de estudio. A su vez muchos de los cuerpos de agua son semipermanentes, por lo que al estar en constante movimiento se dificulta el establecimiento de grandes poblaciones de esta especie.

Material de estudio: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Laguna de los Padres, 37° 56' 42" S, 57° 43' 21" O, 1-XII-2007, Mancini 00369.

Woodsiaceae

22. **Woodsia montevidensis** (Spreng.) Hieron.

Origen: Nativo. Se encuentra desde Argentina, Brasil, Uruguay hasta Bolivia, Perú y Colombia. En Argentina se puede encontrar desde el noroeste del país hasta las sierras de La Pampa y la provincia de Buenos Aires, y la provincia de Río Negro. Se encuentra registrada para el sistema serrano de Tandilia y Ventania.

Hábitat y ecología: Saxícola. Se observa en áreas dominadas por roca expuestas al sol en la cima de las sierras (Tabla 3).

Observaciones: Una de las especies más frecuentes de encontrar en la zona de estudio. Forma pequeñas poblaciones estables en varios roquedales dentro de una misma área.

Material estudiado: ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de General Pueyrredon*, Sierra de los Padres, 37° 56' 26" S, 57° 47' 38" O, 8-III-2024, O'Connor 01018 (MDQ); ídem, *Partido de Balcarce*, Sierra la Vigilancia, 37° 52' 33" S, 58° 01' 40" O, 1-VIII-2009, Sottile 00448, 00449 y 00450 (MDQ).

Clave de especies de licofitas y helechos del sudeste de Tandilia

1. Plantas acuáticas, palustres o flotantes con hojas sésiles. Plantas heterospóricas.
2. Plantas flotantes con raíces no ramificadas y frondes lobuladas, dispuestas en 2 hileras imbricadas. Esporangios en soros con indusio dentro de angiosoros con cubierta delgada.

Azolla filiculoides

- 2'. Plantas palustres con raíces dicotómicamente ramificadas, perdiendo sus licófilos en períodos de sequía. Licófilos ligulados, filiformes con nervadura central rodeada por cuatro canales de aire. Megaesporangios y microesporangios ubicados en foseta en la base adaxial de los licófilos.

Isoetes sp.

- 1'. Plantas terrestres homospóricas.

3. Plantas con frondes dimorfas o hemidimorfas (divididas en una porción fértil y otra estéril). Esporangios agrupados en pinnas fértiles o en esporóforos.

4. Plantas terrestres o saxícolas con rizomas (no engrosados, horizontales), pecíolos y láminas pilosas. Frondas con pinnas fértiles y estériles (superiores). Esporangios con anillo subapical completo.

Anemia tomentosa var. *tomentosa*

- 4'. Plantas terrestres usualmente creciendo en praderas bajas, con rizomas esféricos, pecíolos y láminas glabras. Láminas estériles (trofóforos) simple, de disposición horizontal brevemente pedunculada de 3-3,5 x 2-2,5 cm. Porción fértil (esporóforo) de hasta 7,5(-14,6) cm de largo con lámina ausente reducida a un angiostroma con 6-12 pares de esporangios.

Haukia crotalophoroides

- 3'. Plantas con hojas mono o dimorfas, láminas simples, pinnadas o bipinnadas. Esporangios dispuestos en soros o cenosoros dispersos o hacia los márgenes de las láminas, a lo largo o en terminaciones de las venas, desnudos, con indusio o protegidos por el margen foliar recurvado.

5. Esporangios dispuestos en cenosoros o soros continuos/subcontinuos recubiertos o no por el margen recurvado de las pinnas.

6. Soros cubiertos por el margen recurvado de las pinnas.

7. Plantas con frondes grandes (0,5-1,5 m de largo) 3-4 pinnadas o más divididas, soros protegidos por un indusio membranaceo (además de por el margen recurvado de la lámina).

Pteridium esculentum subsp. *arachnoideum*

- 7'. Plantas con frondes menores a 0,5 m de largo.

8. Frondes cespitosas, de (5-) 10- 20 cm de largo con láminas ovado-deltadas o pentagonales, 3 pinnado-pinnatífidas con pseudoindusios subcontinuos.

Cheilanthes hieronymi

- 8'. Frondes con láminas pinnadas o pinnatífidas (3-5 segmentos).

9. Frondes pinnatisectas a pinnadas, pedadas, generalmente con 3-5 segmentos, raramente más. Plantas de hasta 22 cm de largo, aunque frecuentemente menores a 10 cm de alto.

Doryopteris triphylla

- 9'. Frondes con láminas pinnadas, linear lanceoladas, pinnas ternadas.

Pellaea ternifolia subsp. *Ternifolia*

- 6'. Soros reunidos en cenosoros lineares con indusio lateral que se abre hacia la costa de la pinna.

10. Frondes dimorfas y pinnas con margen aserrado, cenosoros de posición marginal, plantas con rizoma arborescente.

Parablechnum cordatum

10'. Frondes monomórficas o subdimórficas, cenosoros de posición costal a media.

11. Frondes monomórficas con láminas lanceoladas, hasta de 8 cm de ancho, cenosoros a mitad de distancia entre la costa y el margen.

Blechnum laevigatum

11'. Frondes subdimórficas, las fértiles un poco más reducidas que las estériles. Cenosoros costales continuos u ocasionalmente interrumpidos.

Blechnum auriculatum

5'. Esporangios dispuestos en soros separados o dispersos cubriendo gran parte de la lámina.

12. Frondes simples.

Elaphoglossum gayanum

12'. Frondes pinnadas, pinnatífidas o pinnatisectas.

13. Plantas con esporangios protegidos por el margen recurvado de la lámina.

14. Pínnulas con relación largo/ancho 2:1 con la base cuneado-asimétrica.

Adiantum raddianum

14'. Pínnulas con relación largo/ancho 1:1 con la base cuneado-simétrica o asimétrica.

15. Plantas con escamas rizomáticas con margen ciliado, frondes de 40-60 cm de largo y pecíolos de 2-3 mm de diámetro. Pseudoindusios de contorno cuadrangular, rectangular, orbicular o reniforme en número de 4 a 7 por pínula.

Adiantum poiretii

15'. Plantas con escamas rizomáticas con margen entero, frondes de 25-55cm de largo y pecíolos de 2 mm de diámetro. Pseudoindusios de contorno orbicular o reniforme en número de 5 a 10 por pínula.

Adiantum chilense var. *chilense*

13'. Plantas con soros redondeados o alargados desnudos o cubiertos por indusio.

16. Soros alargados.

17. Plantas con láminas pinnadas, lanceoladas, herbáceo-membranáceas, con 20-35 pares de pinnas opuestas a subopuestas, con base asimétrica. Soros marginales con indusios membranáceos.

Asplenium ulbrichtii

17'. Plantas con láminas de contorno ovado-deltoide, delicadas, 2-4 pinnadas con segmentos oblongo-lineares. Soros alargados, desnudos, a mitad de distancia entre la línea media y el margen.

Gastoniella chaerophylla

16'. Soros circulares.

18. Plantas con láminas pinnatífidas o pinnatisectas.

19. Plantas con láminas pinnatífidas, coriáceo-carnosas, con segmentos de hasta 12 pares alternos.

Pleopeltis pinnatifida

19'. Plantas con láminas pinnatisectas herbáceas, con segmentos alternos u opuestos de entre 12-50 pares.

Serpocaulon lasiopus

18'. Plantas con láminas 1-2-3 pinnadas.

20. Plantas terrestres, rupestres con frondes glabras de 30-65 cm de largo, con pecíolos cilíndricos acanalados, castaños amarillentos, lustrosos. Láminas deltoides, 2-3 pinnadas con soros cubierto por indusios peltados membranáceos caducos.

Rumohra ponceana

- 20'. Plantas terrestres o saxícolas con frondes cubiertas por pelos y soros desnudos, o con indusios no peltados. Láminas pinnado-pinnatífidas o bipinnadas.

21. Plantas de hasta 35 cm de alto. Frondes fasciculadas, escamas en la base del pecíolo, con láminas verde claras o amarillentas, pinnado-pinnatífidas, rara vez bipinnadas, cubiertas por numerosos pelos glandulares pluricelulares. Soros circulares con indusio ínfero membranáceo, en forma de platillo y compuesto por lóbulos.

Woodsia montevidensis var. *montevidensis*

- 21'. Plantas con frondes aglomeradas, laxas, de 35-120 cm. Con láminas 2-pinnadas verde oscuras, pecíolos y raquis con escamas en toda su extensión, ejes y pínulas cubiertas por pelos glandulares, 1-celulares. Soros dispuestos en toda la lámina sin indusio.

Polystichum montevidense

DISCUSIÓN

Análisis de la representación de la flora de helechos y licofitas del sudeste de Tandilia en relación a la pteridoflora serrana bonaerense

El análisis comparativo de la afinidad biogeográfica de los taxones presentes en los sistemas serranos (Ventania y Tandilia, Tabla 2, Fig. 5) refleja los mismos patrones previamente descritos por de la Sota (1967) donde el componente austral-antártico es mayor en Ventania. Resulta novedoso que este patrón se ve reforzado cuando se compara la composición biogeográfica de helechos y licofitas del sudeste de Tandilia con el del Sistema de Tandilia completo y con Ventania. La composición austral-brasileña del SE de Tandilia representa casi un 20% más que los valores de la composición de Ventania y es un 10% mayor que Tandilia en su conjunto (Fig. 5). Bianchi y Cravero (2010) presentan mapas de temperatura media de enero y julio para Argentina, y en ambos se observa que las temperaturas son en promedio 1°C más frías en Ventania respecto a Tandilia. Por otro lado, reportes del Servicio Meteorológicos muestran que durante el año 2022 (un año particularmente seco desde 1961) se registraron anomalías negativas de precipitación mayores en la zona de Ventania en comparación de Tandilia (Servicio meteorológico Nacional, 2023). Esta diferencia en la composición florística de estas regiones serranas puede vincularse

con el predominio de condiciones más moderadas (en términos de amplitud térmica) hacia el sector oriental de Tandilia vinculadas con el efecto moderador del mar en su cercanías (Verón & Merlotto, 2017; Giampietri, 2023) que favorezca el desarrollo de especies adaptadas a condiciones templado/tropicales-húmedas a diferencia de las condiciones de mayor amplitud térmica y continentalidad general que caracterizan a sectores más occidentales del sistema de Tandilia. La presencia de taxones como *Doryopteris triphylla* (taxón exclusivamente de distribución austral-brasileña) en Tandilia y su ausencia en Ventania es un ejemplo de los límites de tolerancia para especies megatérmicas cuya distribución más austral llegaría hasta el sistema de Tandilia. Por el contrario, la distribución de *Polystichum plicatum* (Poepp. ex Kunze) Hicken ex Hosseus (austral-antártica) expresaría su límite norte en Ventania. El mayor porcentaje de elementos Andino-pampeanos en Ventania y Tandilia comparado con el SE de Tandilia refuerza la hipótesis de condiciones más moderadas hacia el Atlántico. Las particularidades registradas en términos de composición florística para el SE de Tandilia pueden vincularse también al tipo de basamentos expuestos (ortocuarcitas) que dominan esta región y se diferencia del resto del sistema de Tandilia (Teruggi & Kilmurray, 1980; Martínez, 2011a) y el grado diferencial de intervención antrópica sobre estas serranías (de Rito *et al.*, 2020).

Por otro lado, las especies de distribución andino-pampeana y austro-brasileña habrían llegado por dispersión a distancia a lo largo de las rutas serranas que conectan el arco peripampásico con áreas subtropicales de altos valores de riqueza de helechos y licofitas (Ponce *et al.*, 2002; de la Sota *et al.*, 2004) durante las variaciones en el nivel del mar y cambio climático desde el Mioceno-Pleistoceno que habrían permitido conectar las biotas mediante la aparición de hábitats intermedios y/o que provocaron el desplazamiento latitudinal de las biotas subtropicales hacia el sur (Villagrán & Hinojosa, 1997; Barreda *et al.*, 2007). Los vínculos entre la flora de Tandilia y otras regiones templado-tropicales de Uruguay-Brasil han sido previamente demostrados para otros grupos de plantas (Crisci *et al.*, 2001) y artrópodos (Roig-Juñent & Quiroga, 2021). Además, la abundancia de elementos austral-brasileños también se ha registrado en el cordón medanoso norte de la provincia de Buenos Aires (Cabrera, 1941; Celsi, 2016) demostrando como la cercanía de estas áreas con los ecosistemas uruguayo-brasileños habría facilitado el intercambio de biota durante periodos de cambio climático.

Análisis de frecuencia y distribución de los taxones de helechos y licofitas relevados en el sudeste de Tandilia

El hecho de que casi el 40% de las especies relevadas tenga un estatus de “rara” demanda medidas urgentes que permitan resguardar la subsistencia de estos taxones. Es interesante destacar que aquellos helechos y licofitas poco frecuentes se encontraron en general en los sitios que corresponden a extensiones serranas más grandes (ej. Sierra La Vigilancia), y esto es coincidente con la mayor riqueza de interacciones planta-insecto y de aquellas interacciones especialistas que reportó Sabatino *et al.* (2010) para sierras del sudeste de Tandilia con mayor superficie. Estos resultados refuerzan la necesidad de priorizar esfuerzos en el establecimiento de áreas protegidas en el ambiente serrano, en especial en aquellas sierras que aún conservan gran parte de la cobertura vegetal original (Herrera *et al.*, 2023).

Por otro lado, la caracterización de las especies de acuerdo a su preferencia por diferentes microhábitats que influyen valores de parámetros contrastantes (de nivel de irradiancia, saturación de humedad del suelo, exposición al viento) nos permite resaltar diferentes estrategias de adaptación a las condiciones

de déficit hídrico del sistema serrano (Fig. 6; Tabla 3). Entre las estrategias xero-adaptativas puede mencionarse la presencia de láminas reducidas, coriáceas (ej. *D. triphylla*, *P. ternifolia* subsp. *ternifolia*), cubiertas por pelos (*A. tomentosa* var. *tomentosa*, *W. montevidensis*) (Dörken *et al.*, 2020) e incluso la pérdida del aparato fotosintético durante la estación desfavorable sobreviviendo a partir de las reservas del rizoma (*H. crotalophoroides*, *Pteridium esculentum*) (O’Brien, 1963; Marrs & Watt, 2006). El caso de *Cheilanthes hieronymi* es llamativo, ya que en el área de estudio sólo se lo encontró asociado a roquedales de cumbre donde existen condiciones de alto déficit hídrico. Sin embargo, el aparato vegetativo de esta especie se caracteriza por láminas delgadas sin diferenciación de parénquima en empalizada, así como de epidermis y cutículas delgadas (Ponce, 1982). Sin embargo, cabe mencionar que los ejemplares observados son pequeños y se encuentran protegidos en parte por estratos de gramíneas típicas del flechillar que se desarrollan rodeando estos roquedales. La posibilidad de que esta especie posea mecanismos de reviviscencia le permitiría sobrevivir a periodos de déficit hídrico prolongados (Ponce, 1982). Para la ubicación de la posición de *Cheilanthes hieronymi* en la figura 6 se ponderó lo registrado para el SE de Tandilia con las interpretaciones eco-morfológicas de esta especie publicadas en Ponce (1982). En el otro extremo del gradiente, aquellas plantas que crecen a la sombra y vinculadas a ambientes húmedos presentan láminas más delgadas con pocas células de espesor (*Adiantum* spp., *Gastoniella chaerophylla*, *Isoetes* sp.) (Givnish, 1988) y rizomas de reserva que les permiten sobrevivir durante periodos de sequía, en especial para especies palustres de cuerpos de agua efímeros como *Isoetes* sp. Otro patrón destacable es que a medida que la combinación de factores facilita mayor disponibilidad hídrica, esto coincide con el desarrollo de especies con frondes de mayor tamaño. Esta característica es típica de plantas adaptadas a ambientes boscosos y tolerancia a la sombra (Sottile *et al.*, 2015). Este tipo de estrategias puede ser beneficiosa para aquellas especies (ej. *R. ponceana*, *P. montevidense*, *Adiantum* spp.) que habitan sierras amenazadas por la invasión de *A. melanoxylon*, especie arbórea invasora que forma densos bosques monoespecíficos cuya invasión está causando un gran impacto sobre la flora serrana (Echeverría *et al.*, 2023; Zaninovich *et al.*, 2023).

El relevamiento de este grupo de plantas vasculares permite visibilizar plantas nativas de la región que pueden tener un amplio potencial para su cultivo como plantas ornamentales dado que, en su gran mayoría, son plantas rizomatosas con gran capacidad de multiplicarse en sustratos pobres en nutrientes y que dependiendo la especie existe un amplio abanico de condiciones ecológicas que son compatibles con distintas especies. Además, la información compilada es de relevancia para su consideración en planes de restauración o conservación de este grupo de plantas y ecosistemas serranos. De los taxones registrados con mayor plasticidad ecológica se destacan *R. ponceana*, *P. ternifolia*, *S. lasiopus*, *B. auriculatum* y *P. montevidense*.

CONCLUSIONES

Este trabajo permitió caracterizar un importante grupo taxonómico que generalmente ha sido subestudiado para las comunidades vegetales de Tandilia. La riqueza de helechos y licofitas de esta región serrana, evidencia que gran parte de las unidades estudiadas presentan un buen estado de conservación ya que se registró un alto porcentaje de la flora pteridofítica de Tandilia y de la reportada para las sierras bonaerenses en general (51% y 40%, respectivamente), incluyendo el primer registro del género *Isoetes* para toda el área serrana de Buenos Aires. Este último, se encuentra actualmente en estudio para su determinación taxonómica a nivel de especie ya que presenta caracteres diferentes a aquellas especies de *Isoetes* previamente publicadas para la flora argentina. No se encontraron especies acuáticas de los géneros *Pilularia* L. y *Marsilea* L. que se han reportado para áreas de llanura inundables de los partidos de General Pueyrredon y Balcarce (Ponce & Arana, 2016), sin embargo, es posible que el registro de estas especies demande esfuerzos de muestreos focalizados dado el carácter críptico de las mismas (en relación a la dificultad de distinguirlas a campo de otras hidrófitas herbáceas en ausencia de estructuras reproductivas).

El análisis de la riqueza y asociación de las especies de licofitas y helechos en diferentes microhábitats del perfil serrano aporta elementos de relevancia para la contemplación de los mismos en el marco de informes de impacto ambiental, planes de manejo y conservación de los ecosistemas serranos ya que si

bien se destacan los microhábitats de roquedales por presentar los mayores valores de riqueza, las terrazas aluviales y cuerpos de agua presentan especies que ocurren de manera poco frecuente o nula en otro tipo de microhábitat. Por lo que todos los microhábitats serranos presentan una alta valoración en términos de conservación de la diversidad específica.

El análisis biogeográfico de la pteridoflora del Sudeste de Tandilia en comparación con la composición de todo el sistema de Tandilia y de Ventania, refuerza la singularidad de la biota del sudeste bonaerense y sus vínculos con la biota Uruguaya y del sudeste brasileño. Sería interesante profundizar este tipo de análisis incluyendo otros grupos de plantas y animales con el fin de profundizar en la comprensión de la historia biogeográfica de la región.

Es necesario fortalecer las estrategias de inventario y monitoreo del estado de conservación de licofitas y helechos junto con indagar sobre las formas de propagación sexual y asexual de estos organismos de manera tal de (a) establecer áreas de preservación adecuadas que contemplen no sólo los microambientes de desarrollo de los esporofitos, sino también a las áreas de desarrollo de los gametofitos, para poder asegurar la conservación de diversidad específica y genética, y (b) sumar a este grupo a otras iniciativas que involucran el cultivo y la utilización de especies nativas para el diseño de paisajes que incorporen el acervo originario de la Ecorregión pampeana a la infraestructura verde urbana, periurbana y rural.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

G.D.S., T.O'C., G.B.H., C.P.W. y P.S. participaron en el diseño y realización de la investigación; análisis, recolección o interpretación de datos, preparación de las figuras y redacción del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

A los propietarios de las estancias Paititi, El Abrojo, Los Blancos, La Brava, La Serranita y La Vigilancia por permitirnos realizar los relevamientos durante todos estos años. Al Herbario MDQ (IIMyC- UNMDP, Departamento de Biología- FCEyN) por brindar el equipamiento

y bibliografía para la determinación de ejemplares. A Malena Sabatino, Mariana Fernández Honaine, Marcos Echeverría, Alejandra Marcos y Ana Mazzolari por su asistencia en salidas de campo. A M. Virginia Mancini por abrirnos las puertas al maravilloso mundo de las plantas. A dos revisores anónimos y a la Dra. Yáñez que con sus sugerencias y aportes permitieron mejorar sustancialmente este manuscrito. Este trabajo se enmarca en los siguientes subsidios financiados por la UNMDP, a cargo de G.D.S: EXA1215/24, EXA1103/22.

DATOS PRIMARIOS DE INVESTIGACIÓN

La información parcial de los datos primarios de investigación utilizados en este trabajo han sido registrados en el portal del Global Biodiversity Information Facility (GBIF) como un publicador de datos avalado por GBIF Argentina y al que se accede a través del enlace <https://www.gbif.org/dataset/daacce49-b206-469b-8dc2-2257719f3afa> (<https://doi.org/10.15468/bej8hr>). Por su parte, se encuentra la información completa de los datos utilizados registrado en <https://www.iimyc.gob.ar/iimyc/es/herbario-iimyc/>, del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, CONICET-Universidad Nacional de Mar del Plata/Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

BIBLIOGRAFÍA

ALONSO, S. I., I. R. GUMA, M. C. NUCIARI & A. VAN OLPHEN. 2009. Flora de un área de la Sierra La Barrosa (Balcарce) y fenología de especies con potencial ornamental. *Rev. Fac. Cienc. Agrar. Univ. Nac. Cuyo* 41: 23-44.

ARANA, M. D. & B. ØLGAARD. 2012. Revisión de las Lycopodiaceae (Embryopsida, Lycopodiidae) de Argentina y Uruguay. *Darwiniana* 50: 266-295. <https://doi.org/10.14522/darwiniana.2014.502.505>

ARANA, M. D. & C. M. MYNSEN. 2015. *Cystopteris* (Cystopteridaceae) del Cono Sur y Brasil. *Darwiniana* 3: 73-88. <https://doi.org/10.14522/darwiniana.2015.31.639>

ARANA, M. D., M. PONCE, J. J. MORRONE & A. J. OGGERO. 2013. Patrones biogeográficos de los helechos de las Sierras de Córdoba (Argentina) y

sus implicancias en la conservación. *Gayana Bot.* 7: 357-376. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432013000200013>

ARANA, M. D., A. YAÑEZ & P. B. SCHWARTSBURD. 2014. An updated synopsis of *Hypolepis* Bernh. (Dennstaedtiaceae) from Argentina. *Phytotaxa* 188: 91-102. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.188.2.3>

ARANA, M. D., E. NATALE, A. OGGERO, N. FERRETTI, G. ROMANO, ..., & J. J. MORRONE. 2021a. Esquema biogeográfico de la República Argentina. *Opera Lilloana* 56 (3): 1- 240. <http://www.lillo.org.ar/editorial/index.php/publicaciones/catalog/book/253>

ARANA, M. D., M. L. LUNA, P. C. BERRUETA, M. L. MARTINENCO & G. E. GIUDICE. 2021b. *Rumohra ponceana* (Polypodiales: Dryopteridaceae): a new species from Pampean biogeographic province in Argentina. *Phytotaxa* 521: 27-38. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.521.1.3>

BARSKY, O. (ed.). 1991. *El desarrollo agropecuario pampeano*. Centro Editor Latinoamericano, Buenos Aires.

BARREDA, V., L. M. ANZOATEGUI, A. R. PRIETO, P. ACEÑOLAZA, M.M. BIANCHI, ..., & A. ZUCOL. 2007. Diversificación y cambios de las angiospermas durante el Neógeno en Argentina. *PE-APA* 11:173-191.

BIANCHI, A. R. & S. A. C. Cravero. 2010. Atlas climática digital de la República Argentina. Ediciones INTA, Salta.

CABRERA, A. L. 1941. Las comunidades vegetales de las dunas costaneras de la Provincia de Buenos Aires. *DAGI Publicaciones técnicas* 1:5-44.

CABRERA, A. L. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Bol. Soc. Argent.* 14:1-42.

CAPURRO, R. 1961. Las Pteridofitas de la Provincia de Buenos Aires e Isla Martín García. *An. Com. Inv. Cien. Prov. Bs. As.* 2: 57-320.

CELSI, C. 2016. La vegetación de las dunas costeras pampeanas. En la Costa Atlántica de Buenos Aires. Naturaleza y Patrimonio Cultural Ed. 1°. Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Ciudad de Buenos Aires.

CINGOLANI, C. A. 2010. The Tandilia System of Argentina as a southern extension of the Río de la Plata craton: an overview. *Int. J. Earth Sci.* 100: 221-242. <https://doi.org/10.1007/s00531-010-0611-5>

CRISCI, J. V, S. FREIRE, G. SANCHO & L. KATINAS. 2001. Historical biogeography of the Asteraceae

- from Tandilia and Ventania mountain ranges (Buenos Aires, Argentina). *Caldasia* 23: 21-41.
- COLOBIG, M. D. K. M., A. F. MAZZANTI, D. L. MARTÍNEZ & E. PASEGGI. 2016. Registros biosilíceos en sitios arqueológicos de las sierras de Tandilia Oriental, Argentina (Pleistoceno Tardío-Holoceno Tardío): Consideraciones paleoambientales. *Rev. Mus. Argent. Cienc. Nat.* 18: 39-52.
- DE LA SOTA, E. R. 1967. Composición, origen y vinculaciones de la flora pteridológica de las sierras de Buenos Aires (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 11: 105-128.
- DE LA SOTA, E. R. 1972. Nota sobre las especies austrosudamericanas del género *Blechnum* L. (Blechnaceae, Pteridophyta). III. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 14: 177-184.
- DE LA SOTA, E. R. 1973. La distribución geográfica de las pteridofitas en el cono sur de América meridional. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 15: 23-34.
- DE LA SOTA, E. R. 1985. Las pteridofitas de la provincia de La Pampa, Argentina. *Rev. Fac. Agron. UNLPam.* 1: 23-34.
- DE LA SOTA, E. R., M. M. PONCE, M. A. MORBELLI & L. A. CASSÁ DE PAZOS. 1998. Pteridophyta. En: CORREA, M. N. (ed.), *Flora Patagónica*, Tomo VIII, parte I, pp. 282-370. INTA, Buenos Aires.
- DE LA SOTA, E. R., G. E. GIUDICE, M. PONCE, J. P. GIACOSA & M. ARTURI. 2004. Relaciones fitogeográficas de la flora pteridofítica serrana bonaerense. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 39: 181-194.
- DE RITO, M. V., M. FERNÁNDEZ HONAINÉ, M. & L. P. HERRERA. 2020. Aplicación de un índice de naturalidad para las sierras del sistema de Tandilia. *Rev. Mus. Argent. Cienc. Nat.* 22: <https://doi.org/10.22179/REVMACN.22.672>
- DÖRKEN, V. M., P. G. LADD & R. F. PARSONS. 2020. Anatomical aspects of xeromorphy in arid-adapted plants of Australia. *Austral. J. Bot.* 68: 245-266. <https://doi.org/10.1071/BT19073>
- ECHEVERRÍA, M. L., S. I. ALONSO & V. M. COMPARATORE. 2017. Survey of the vascular plants of Sierra Chica, the untouched area of the Paititi Natural Reserve (southeastern Tandilia mountain range, Buenos Aires province, Argentina). *Check List* 13: 1003-1036. <https://doi.org/10.15560/13.6.1003>
- ECHEVERRÍA, M. L., S. I. ALONSO & V. M. COMPARATORE. 2023. Vegetation of a hill grassland of the Paititi Natural Reserve (Pampa biome) and early detection of non-native species acting as invasive. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 58: 71-90. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v58.n1.38512>
- FALASCA, S., A. ULBERICH, N. BERNABÉ & S. MORDENTI. 2000. Principales características agroclimáticas del sudeste bonaerense. *Rev. Geogr.* 127: 91-102.
- FERRETTI, N., A. GONZÁLEZ & F. PÉREZ-MILES. 2012. Historical biogeography of mygalomorph spiders from the peripampasic orogenic arc based on track analysis and PAE as a panbiogeographical tool. *Syst. Biodivers.* 10: 179-193. <https://doi.org/10.1080/14772000.2012.694375>
- FILGUEIRAS, T. S., P. E. NOGUEIRA, A. L. BROCHADO & G. F. GUALA. 1994. Caminhamento: um método expedito para levantamentos florísticos qualitativos. *Cadernos de Geociências* 12: 39-43.
- FRANGI, J. L. 1975. Sinopsis de las comunidades vegetales y el medio de las Sierras de Tandil (Provincia de Buenos Aires). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 15: 293-319.
- FRANGI, J. L. & O. J. BOTTINO. 1995. Comunidades vegetales de la Sierra de la Ventana, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista Fac. Agron. Univ. Nac. La Plata* 71: 93-133.
- FRENGUELLI, J. 1950. Rasgos generales de la morfología y geología de la provincia de Buenos Aires. Provincia de Buenos Aires, Ministerio de Obras Públicas de la Provincia de Buenos Aires. *Lab. Ensayos Materiales Invest. Tecnol. (LEMIT) Ser. II* 33: 1-72.
- GANEM, G. E. 2017. *Revisión sistemática del género Asplenium L. (Aspleniaceae) en Argentina*. Universidad Nacional de La Plata. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. <http://naturalis.fcny.unlp.edu.ar/id/20180806001599>
- GIAMPIETRI, L. H. 2023. *Diferencias térmicas y eólicas entre áreas costeras e interiores de Mar del Plata, Argentina. Su incidencia en el confort climático para las actividades deportivas y recreativas*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- GIVNISH, T. J. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Funct. Plant Biol.* 15: 63-92.
- GUERRERO, E. L. & M. J. APODACA. 2022. The smallest area shaped a big problem: a revision of the placement of the Ventania sky island in the biogeography of South America. *Biol. J. Linn. Soc.* 137: 200-215. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blac088>

- HERRERA, L., A. AUER, F. JAIMES, J. VON BELOW, M. P. BARRAL, L. MONTI, ..., & C. RAMÍREZ. 2023. La conservación de la naturaleza en el Sistema de Tandilia. *Ciencia Hoy* 185: 41-46.
- INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA). 1989. *Mapa de suelos de la provincia de Buenos Aires-Escala 1:500.000*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires.
- IUCN. 2012. IUCN Red List Categories and Criteria. Version 3.1. 2nd Ed. IUCN Species Survival Commission, Gland and Cambridge. <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/RL-2001-001-2nd.pdf>
- JAIMES, F. R., M. SABATINO & L. P. HERRERA. 2019. Caracterización del Paisaje serrano de Tandilia (Buenos Aires, Argentina) utilizando SIG. Una aproximación para definir áreas prioritarias para la conservación. *Revista Estudios Ambientales*. 7: 39-65.
- KRISTENSEN, M. J. & J. L. FRANGI. 1996. Mesoclimas de roquedales de la Sierra de la Ventana. *Ecol. Austral* 6: 115-122.
- MACCARINI, G. D. & O. BALEANI. 1995. *Atlas de Suelos de la República Argentina. Base cartográfica digitalizada*. Fundación ArgenINTA, CIRN Instituto de Suelos INTA, Aeroterra, Buenos Aires.
- MARRS, R. H. & A. S. WATT. 2006. Biological flora of the british isles: *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *J. Ecol.* 94: 1272-1321. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01177.x>
- MARTÍNEZ, G. A. 2007. Procesos de formación de sitios en reparos rocosos de Tandilia. Cazadores-Recolectores del Cono Sur. *Rev. Arqueol.* 2: 105-127.
- MARTÍNEZ, G. A. 2011a. Geomorfología del paisaje serrano e inter serrano de Tandilia Oriental. En: MASSONE, H. (comp.), *Laguna de Los Padres y La Brava: Un recurso natural y social para cuidar y compartir*. 1a Ed. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata.
- MARTÍNEZ, G. A. 2011b. Historia geológica Tandilia Oriental y llanura circundante. En: MASSONE, H. (Comp.), *Lagunas de Los Padres y La Brava: Un recurso natural y social para cuidar y compartir*. 1a Ed. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata.
- MORELLO, J., S. D. MATTEUCCI, A. F. RODRÍGUEZ & M. E. SILVA. 2012. *Ecorregiones y complejos Ecosistémicos de Argentina*. Orientación Gráfica Editora S.R.L, Buenos Aires.
- MORERO, R., M. A. GIORGIS, M. D. ARANA & G. E. BARBOZA. 2014. Helechos y licofitas del centro de Argentina: cultivo y especies ornamentales. 1a ed. L.O.L.A., Buenos Aires.
- MORERO, R. E., R. DEANNA, G.E. BARBOZA & D. S. BARRINGTON. 2019. Historical biogeography of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae) in Austral South America. *Mol. Phylogenet. Evol.* 137: 168-189. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.05.004>
- O'BRIEN, T. P. 1963. The morphology and growth of *Pteridium aquilinum* var. *esculentum* (Forst.) Kuhn. *Ann. Bot.* 27: 253-267.
- PÁEZ, M. M. & A. R. PRIETO. 1993. Paleoenvironmental reconstruction by pollen analysis from loess sequences of the southwest of Buenos Aires (Argentina). *Quatern. Int.* 17: 21-26. [https://doi.org/10.1016/1040-6182\(93\)90076-R](https://doi.org/10.1016/1040-6182(93)90076-R)
- PAZOS, M. S. 1996. Clasificación de los suelos del partido de Azul (provincia de Buenos Aires, Argentina) según la Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (ISSS, ISRIC, FAO, 1994). *Ciencia del suelo* 14: 116-118.
- PONCE, M. M. 1982. Morfología ecológica comparada de las filicopsidas de las sierras australes de Buenos Aires (República Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 21: 187-211.
- PONCE, M., K. MEHLTRETER & E. R. DE LA SOTA. 2002. Análisis biogeográfico de la diversidad pteridofítica en Argentina y Chile continental. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 75: 703-717.
- PONCE, M. & M. D. ARANA (coords.). 2016. Flora vascular de la República Argentina. Vol 2. Licofitas, Helechos y Gymnospermae. IBODA-CONICET, San Isidro.
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *J. Syst. Evol.* 54: 563-603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- PRADA, C., C. H. ROLLERI & L. PASSARELLO. 2008. Morfología, caracterización y distribución geográfica de *Blechnum cordatum* (Blechnaceae-Pteridophyta). *Acta Bot. Malac.* 33, 29-46. <https://doi.org/10.24310/abm.v33i0.6980>
- PRIETO, A. R. 1996. Late Quaternary Vegetational and Climatic Changes in the Pampa Grassland of Argentina. *Quat. Res.* 45: 73-88.
- ROIG-JUÑENT, S. & C. R. QUIROGA. 2021. Nuevas especies de carábidos y consideraciones biogeográficas del arco peripampásico. *Rev. Soc. Entomol. Arg.* 80: 10-22. <https://dx.doi.org/https://doi.org/10.25085/rsea.800102>

- ROLLERI, C. H. & C. PRADA. 2006a. Catálogo comentado de las especies mesoamericanas y sudamericanas de *Blechnum* L., Blechnaceae-Pteridophyta. *Anales Jard. Bot. Madrid* 63: 67-106.
- ROLLERI, C. H. & C. PRADA. 2006. Revisión de los grupos de especies del género *Blechnum* L. (Blechnaceae-Pteridophyta), el grupo *B. pennamarina*. *Acta Bot. Malac.* 31: 7-50.
- SABATINO, M., N. MACEIRA & M. A. AIZEN. 2010. Direct effects of habitat area on interaction diversity in pollination webs. *Ecol. Appl.* 20: 1491-1497. <https://doi.org/10.1890/09-1626.1>
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. 2023. Clima en Argentina 2022: temperaturas extremas, sequía y récords. Disponible en: <https://www.smn.gov.ar/noticias/clima-en-argentina-2022-temperaturas-extremas-sequ%C3%ADa-y-r%C3%A9cords> [Acceso: 2 julio 2024].
- SOTTILE, G. D., M. E. ECHEVERRÍA, M. A. MARCOS, F. P. BAMONTE, ... & N. FERNÁNDEZ. 2011. Flora de las sierras de Mar del Plata y Balcarce: conocer para conservar. En: MASSONE, H. (Comp.), *Laguna de los padres y la Brava, un recurso natural y social para cuidar y compartir*. 1a ed. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata.
- SOTTILE, G. D., C. RAYÓ, S. ESQUIUS, S. GÓMEZ, J. ESCRIBANO & M. S. TONELLO. 2023. Notas sobre la composición de briofitos, clorofitas, carofitas y cianobacterias de la cumbre y roquedales altos del sector oriental de Tandilia. *Bol. Soc. Argent. Bot. (suplemento)* 58: 311.
- SOTTILE, G. D., P. E. MERETTA, M. S. TONELLO, M. M. BIANCHI & M. V. MANCINI. 2015. Disturbance induced changes in species and functional diversity in southern Patagonian forest-steppe ecotone. *Forest. Ecol. Manage.* 353: 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.05.025>
- SCHWARTBURD, P. B., A. YAÑEZ & J. PRADO. 2018. Formal recognition of six subordinate taxa within the South American bracken fern, *Pteridium esculentum* (*P. esculentum* subsp. *arachnoideum* s.l.-Dennstaedtiaceae), based on morphology and geography. *Phytotaxa* 333: 022-040.
- TERUGGI, M. E. & J. O. KILMURRAY. 1980. Sierras Septentrionales de la provincia de Buenos Aires. En TURNER J. C. M. (ed) *Proc 2º Simposio Geología Regional Argentina. Academia Nacional de Ciencias de Córdoba II*, pp. 919-956.
- THIERS, B. 2024. Index Herbariorum: A Global Directory of Public Herbaria and Associated Staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium [online]. Disponible en: <http://sweetgum.nybg.org/ih/> [2 julio 2024].
- TONELLO, M. S. & A. R. PRIETO. 2010. Tendencias climáticas para los pastizales pampeanos durante el Pleistoceno tardío-Holoceno: estimaciones cuantitativas basadas en secuencias polínicas fósiles. *Ameghiniana* 47: 501-514.
- TURNER, J. 1975. Síntesis. Relatorio Geología de la provincia de Buenos Aires. En *Acta de resúmenes 6º Congreso Geológico Argentino*, pp. 9-27. Asociación Geológica Argentina, Bahía Blanca.
- UNITED STATES SOIL SURVEY STAFF. 1999. *Soil Taxonomy. A basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys*. Agriculture handbook, 436, Washington DC.
- VEGA, L., P. BELLAGAMBA & F. LOBO. 2008. A new endemic species of *Liolaemus* (Iguania: Liolaemidae) from the mountain range of Tandilia, Buenos Aires province, Argentina. *Herpetologica* 64: 81-91. <https://doi.org/10.1655/06-062.1>
- VEGA, L. E., A. S. QUINTEROS, O. A. STELLATELLI, P. J. BELLAGAMBA, ... & E. A. MADRID. 2018. A new species of the *Liolaemus alticolor-bibronii* group (Iguania: Liolaemidae) from East-central Argentina. *Zootaxa* 4379: 539-555. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4379.4.6>
- VERÓN, E. M. & A. MERLOTTO. 2017. Servicios de los ecosistemas costeros en Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. En: MASSONE, H. E. & D. E. MARTÍNEZ (Comps.), *Proyecto WATERCLIMA LAC 2015-2017: compilación de informes técnicos producidos en el Área Piloto Mar del Plata*. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata.
- VIGNOLO, O. R., M. E. GARAVANO, P. D. DE ULZURRUN, H. P. ANGELINI & V. N. IZPIZÚA. 2021. Banco de semillas del suelo en un pastizal de una reserva natural del Sistema de Tandilia (Buenos Aires, Argentina) invadido por *Racosperma melanoxylon*. *Ecol. Austral* 31: 390-399. <https://doi.org/10.25260/EA.21.31.3.0.1247>
- VILLAGRÁN, C. & L. F. HINOJOSA. 1997. Historia de los bosques del sur de Sudamérica, II: Análisis fitogeográfico. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 70: 241-267.
- WAL, A. P., S. MOLNO, A. MURCIANO, C. PRADA & J. M. GABRIEL Y GALÁN. 2021. Biometrics of the sporangia and spores of the *Parablechnum cordatum* complex (Blechnaceae, Polypodiopsida). *Bot. Complut.* 45: 1-10. <https://doi.org/10.5209/bocm.73655>

- WALTER, B. M. T. & E. D. GUARINO. 2006. Comparação do método de parcelas com o “levantamento rápido” para amostragem da vegetação arbórea do Cerrado sentido restrito. *Acta Bot. Bras.* 20: 285-297.
- WRAAGE, C. P. 2023. *Caracterización y comparación de la composición y diversidad de plantas vasculares de laderas norte y sur, en sierras del sudeste bonaerense invadidas y no invadidas por Acacia melanoxylon* Tesis de grado. Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- ZANINOVICH, S. C., L. HERRERA, N. CARRO, E. A. GONZÁLEZ ZUGASTI & L. MONTI. 2023. Bases for the adaptive management of the invasive woody *Acacia melanoxylon* (Fabaceae) in the Paititi Private Natural Reserve, hills of the Tandilia System, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 58: 37-55. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v58.n1.38462>
- ZHANG, L. & L. B. ZHANG. 2022. Phylogeny, character evolution, and systematics of the fern family Ophioglossaceae based on Sanger sequence data, plastomes, and morphology. *Mol. Phylogenet. Evol.* 173: 107512. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107512>



HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES Y ENDÓFITOS SEPTADOS OSCUROS EN RAÍCES DE HELECHOS NATIVOS DE USO MEDICINAL DE LAS SIERRAS CENTRALES DE SAN LUIS, CENTRO-OESTE DE ARGENTINA

ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND DARK SEPTATE ENDOPHYTES IN ROOTS OF NATIVE MEDICINAL FERNS FROM "SIERRAS CENTRALES DE SAN LUIS", CENTRAL-WEST ARGENTINA

María Luz Torres^{1,2}, Esteban M. Crespo^{1,2}, M. Cecilia Carosio¹ & Mónica A. Lugo^{1,2,3*}

1. Área de Ecología, Dpto. de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Facultad de Química Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina
2. MICODIF- Grupo de Micología, Diversidad e Interacciones Fúngicas
3. IMIBIO-CONICET-UNSL

*lugo@unsl.edu.ar,
monicalugo63@gmail.com

Citar este artículo

TORRES, M. L., E. M. CRESPO, M. C. CAROSIO & M. A. LUGO. 2024. Hongos micorrícicos arbusculares y endófitos septados oscuros en raíces de helechos nativos de uso medicinal de las Sierras Centrales de San Luis, centro-oeste de Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 375-392.

 DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v59.n3.44533>

Recibido: 13 Mar 2024
Aceptado: 27 Jul 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editora: Agustina Yañez 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: The plant's roots and fungi establish symbiotic endophytic associations that can coexist: arbuscular mycorrhizae and "dark septate" endophytes. Ferns and lycophytes are vascular plants that can form both fungal symbioses. The objective of this work is to detect the presence of fungal root endosymbiosis, know the mycorrhizal status, and analyze the type of colonization in native and ornamental ferns from the "Sierras Centrales de San Luis".

M&M: In three sites in the "Sierras Centrales de San Luis", 9-10 individuals of each studied species were collected, their roots were processed to study these fungal. Characterization and quantification of their root colonization was evaluated.

Results: In the three sites studied, *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia* formed mycorrhizal associations, the colonization presented abundant hyphal and arbusculated intracellular coils. In addition, glomoid spores of mycorrhizal fungi were found in their rhizospheres. Dark septate endophytes were absent in all species analyzed, none hyphae neither microsclerotia were recorded in roots of these native medicinal ferns.

Conclusions: The mycorrhizal status of *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*, one of the five medicinal fern species from the Sierras Centrales de San Luis studied, is presented. The arbuscular mycorrhizal colonization is described and quantified, and its type is determined as *Paris*. None of the fern species studied was associated with dark septate endophytes.

KEY WORDS

Arbuscular mycorrhizae, *Arum*, Chaco District, dark septate endophytes, ferns, *Paris*.

RESUMEN

Introducción y objetivos: Las raíces de las plantas y los hongos establecen asociaciones simbióticas endofíticas que pueden coexistir: las micorrizas arbusculares y los endófitos "septados oscuros". Los helechos y licófitos son plantas vasculares que pueden formar ambas simbiosis fúngicas. El objetivo de este trabajo es detectar la presencia de endosimbiosis radicales fúngicas, conocer el *status* micorrícico y analizar el tipo de colonización radical en helechos nativos y ornamentales de las Sierras Centrales de San Luis.

M&M: En tres sitios de las Sierras Centrales de San Luis, se recolectaron 9-10 individuos de cada especie estudiada y sus raíces fueron procesadas para el estudio de estas endosimbiosis fúngicas, la cuantificación y caracterización de la colonización radical.

Resultados: En los tres sitios estudiados, *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia* formó asociaciones micorrícicas y la colonización radical presentó abundantes circunvoluciones hifales y arbusculadas intracelulares. Además, se hallaron esporas glomoides de hongos micorrícicos en sus rizósferas. Los endófitos septados oscuros estuvieron ausentes en todas las especies analizadas.

Conclusiones: Se da a conocer el *status* micorrícico de *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*, una de las cinco especies de helechos medicinales de las Sierras Centrales de San Luis estudiadas. Se describe y cuantifica la colonización micorrícico arbuscular, determinándose su tipo como *Paris*. Ninguna de las especies de helechos estudiadas estuvo asociada con endófitos septados oscuros.

PALABRAS CLAVE

Arum, Distrito Chaqueño, endófitos septados oscuros, helechos, Micorrizas arbusculares, *Paris*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos del filo Glomeromycota (Montoliu-Nerin *et al.*, 2021; Wijayawardene *et al.*, 2022), establecen asociaciones simbióticas mutualistas con las raíces *ca.* del 70% de las plantas terrestres, desde los briófitos, incluyendo a la gran mayoría de los helechos y licófitos hasta las plantas con semillas (Smith & Read, 2008; Lehnert *et al.*, 2017; Brundrett & Tedersoo, 2018). A estas interacciones simbióticas se las denomina micorrizas arbusculares (MA) por formar arbusculos, estructuras hifales muy ramificadas y características, que el simbionte fúngico desarrolla intracelularmente en las células radicales corticales (Smith & Read, 2008). En las MA los hongos micorrícicos arbusculares (HMA, Glomeromycota) permiten movilizar a través de sus hifas nitratos, fosfatos y otros elementos esenciales desde suelo a las raíces de la planta hospedante, de la que obtienen a cambio el carbono orgánico producto de la fotosíntesis para su nutrición heterotrófica (Hodge *et al.*, 2010). El intercambio de nutrientes es bidireccional hospedante-simbionte y ocurre en la interfase celular planta-hongo en los arbusculos (Smith & Read, 2008; Bonfante & Genre, 2010; Hodge *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2017).

En las asociaciones MA pueden distinguirse dos tipos morfo-anatómicos de colonización de las raíces, los tipos *Arum* y *Paris* y morfologías intermedias o tipos intermedios (Dickson, 2004; Smith & Read, 2008). El morfotipo *Arum* se caracteriza por la presencia de hifas intercelulares entre las células corticales del hospedante, vesículas inter e intracelulares y ramificaciones cortas que constituyen los arbusculos masivos dentro de las células del hospedante. En el morfotipo *Paris* la colonización hifal de la raíz es intracelular, con repliegues hifales o circunvoluciones intracelulares sobre los que se forman arbusculos inconspicuos o circunvoluciones arbusculadas (Brundrett, 2002; Dickson, 2004). Las asociaciones del tipo *Paris* son más frecuentes en los ecosistemas naturales (Smith & Smith, 1997); podrían ser más ventajosas para las plantas de crecimiento lento, que habitan ecosistemas umbríos (Brundrett & Kendrick, 1990b; Yamato & Iwasaki, 2002), integran comunidades vegetales en etapas sucesionales avanzadas, crecen en condiciones ambientales de bajo contenido de nutrientes y estrés debido a que su tasa de propagación dentro de las raíces

es más lenta que la del tipo *Arum*, suministrando energía a los hongos discrecionalmente (Brundrett & Kendrick, 1990a, b; Ahlu *et al.*, 2005). En cambio, el tipo *Arum* es más frecuente en cultivos agrícolas (Dickson, 2004; Smith & Read, 2008; Muthukumar & Prakash, 2009), que incluyen en general especies de crecimiento rápido y ciclos de vida anuales, en malezas (Yamoto, 2004), en plantas pioneras en las sucesiones (Ahlu *et al.*, 2005) y en especies hospedantes invasoras exóticas (Shah *et al.*, 2009; Gucwa-Przepióra *et al.*, 2016). Sin embargo, las relaciones entre los tipos morfológicos de colonización MA, sus efectos y funcionalidad a nivel ecosistémico son aún inconsistentes (Brundrett & Kendrick, 1990b; Urcelay *et al.*, 2005). Es necesario examinar un rango de hospedantes más diverso y mayor número de especies en diferentes hábitats para poder comprender en profundidad la formación y el funcionamiento de los morfotipos *Arum*, *Paris* y los intermedios en las simbiosis MA.

Otro grupo importante de hongos involucrados en la asociación simbiótica con las raíces de más de 600 especies de plantas hospedadoras (Jumpponen & Trappe, 1998), son los endófitos denominados “septados oscuros” (SO) o endófitos radicales dematiáceos, reconocidos como un grupo heterogéneo que funcionalmente y ecológicamente coexisten con otros hongos del suelo, colonizando intra e intercelularmente los tejidos de las raíces, formando asociaciones simbióticas que van desde el mutualismo al parasitismo (Jumpponen & Trappe, 1998; Newsham, 2011; Knapp *et al.*, 2012). Los SO son un grupo heterogéneo y ubicuo de Ascomycota y Basidiomycota, generalmente con hifas pigmentadas y septadas que además pueden formar una estructura intracelular densamente replegada llamada microesclerocio (Jumpponen & Trappe, 1998; Knapp *et al.*, 2012). En la interacción mutualista, los SO proporcionan a la planta varios beneficios potenciales que conducen a inducir la resistencia a enfermedades, mejorar el crecimiento del hospedador, tolerar el estrés abiótico y proteger la planta de competidores patógenos e insectos predadores mediante la síntesis de metabolitos secundarios fúngicos (Barrow, 2003; Mandyam & Jumpponen, 2005, 2015; Schulz, 2006; Newsham, 2011).

Las plantas actuales evolucionaron en diversas alternativas para la movilización de los nutrientes del suelo, siendo óptima la obtención de nutrientes

a través de las micorrizas (Brundrett, 2009). Estas simbiosis micorrícicas son diversas, se diferencian por la morfo-anatomía de la colonización fúngica en las raíces de los hospedantes, la identidad de los simbiontes fúngicos involucrados y su funcionalidad ecosistémica (Brundrett, 2004, 2009). Además, cada tipo micorrícico se asocia con un sistema radical particular; así, si las raíces son gruesas, crecen lentamente o son longevas, forman MA obligadas. En contraste, las plantas con raíces finas y activas y de ciclos vitales cortos, forman micorrizas facultativas; mientras que, algunas plantas no micorrícicas que no están asociadas a simbiontes micorrícicos en suelos fértiles, sí se benefician de esta asociación en suelos pobres (Brundrett, 2002). Los helechos y licófitos se hallan entre las plantas vasculares más primitivas, se originaron durante el Silúrico (Edwards & Fanning, 1985) y con el transcurso del tiempo fueron dominando la superficie terrestre con sus formas arborescentes, muchas de las cuales se encuentran extintas en la actualidad. Su reproducción se lleva a cabo a través de esporas producidas durante un ciclo de vida complejo, con alternancia de generaciones heteromórficas: gametófito (n) y esporófito (2n), que les permiten colonizar diferentes nichos ecológicos (Kenrick, 2017a, b); junto con otras especies, estos organismos son excelentes bioindicadores debido a su dependencia con el agua en alguna parte de su ciclo vital, sobre todo considerando que su área de distribución abarca hábitats vulnerables por la intervención humana (Mehlreter, 2010a, b). Debido a la diversidad y la importancia ecológica que presentan las plantas vasculares sin semilla como los helechos y licófitos (Mehlreter, 2010a; Sharpe *et al.*, 2010; Nagalingum, 2016; Anderson, 2021), es necesario investigar las asociaciones endosimbióticas radicales en este grupo.

Asimismo, el conocimiento de la naturaleza y la biología de esta asociación es clave para entender la evolución de la simbiosis fúngica como una innovación que lleva a las plantas a la colonización de los ambientes terrestres (Kessler *et al.*, 2010; Pressel *et al.*, 2016). Son escasos los estudios sobre la relación entre el hábitat, el hábito y el tipo de asociaciones simbióticas con HMA y SO en helechos y licófitos (Gemma *et al.*, 1992; Mehlreter, 2010b). Estudios recientes indican que estas plantas, en ambientes terrestres y saxícolas, se asocian más frecuentemente con HMA que con

SO (Lehnert *et al.*, 2017; Brundrett & Tedersoo, 2018). Por el contrario, las especies epífitas de helechos son colonizadas en un alto porcentaje por SO y en menor grado con HMA (Kessler *et al.*, 2010; Lehnert *et al.*, 2017). Si bien los helechos presentan más del 67% de las especies formando MA, las familias estudiadas están constituidas por pocos representantes, a excepción de Anemiaceae, Schizaceae y Nephrolepidaceae que presentan un alto número de taxones que participan en la asociación simbiótica (Lehnert *et al.*, 2017; Brundrett & Tedersoo, 2018). En Argentina los registros de las interacciones simbióticas entre los endófitos fúngicos HMA y SO en helechos y licófitos fueron realizados en el sur, centro y noroeste del país (Fontenla *et al.* 1998, 2001, 2022; Albornoz & Hernández, 2006; Fernández *et al.*, 2008, 2010, 2012a, b; Hernández *et al.*, 2008, 2010; Fracchia *et al.*, 2009).

Por más de 2500 años los humanos han utilizado las plantas con fines medicinales; actualmente, en forma directa, se usan como fuente de medicina herbolaria para la cura de enfermedades en la mayoría de los países subdesarrollados, en particular en las zonas tropicales y subtropicales del planeta; e indirectamente, como proveedoras de los principios activos y sustancias químicas utilizados en la industria farmacéutica para la elaboración de medicamentos de uso comercial (World Health Organization-WHO global report on traditional and complementary medicine. <https://iris.who.int/handle/10665/312342>, 2019). Las plantas medicinales están amenazadas de extinción, por la pérdida y contaminación del hábitat; al mismo tiempo, el aumento en su demanda, el incremento concomitante de su producción y la estandarización requerida para su comercialización han contribuido a un incremento marcado de su cultivo intensivo (Porwal *et al.*, 2020; Mofokeng *et al.*, 2022). Asimismo, la producción a gran escala de las plantas medicinales implicó el detrimento de sus cualidades medicinales como la disminución de los contenidos de sus principios activos y de su actividad metabólica (Zeng *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2018).

Las interacciones simbióticas entre las plantas medicinales con SO, HMA y sus tipos de colonización (Zubek & Blaszkowski, 2009; Zeng *et al.*, 2013) han recibido especial interés a nivel mundial por los beneficios que estos simbiontes

fúngicos brindan a sus hospedantes, mejorando su nutrición, aumentando su productividad, resistencia a patógenos y a la sequía (Smith & Read, 2008). En particular, los HMA y las MA son fundamentales para su cultivo, debido a su rol primordial en el aumento de compuestos activos, metabolitos secundarios medicinales y la actividad metabólica del hospedante, y consecuentemente del incremento en la calidad farmacéutica de las plantas micorrizadas (Zhao *et al.*, 2022; Yuan *et al.*, 2023). Estos estudios se han realizado mayoritariamente en plantas con semillas, con predominio de las angiospermas y escasos representantes de las gimnospermas (Zubek & Blaszkowski, 2009; Zeng *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2022; Yuan *et al.*, 2023). A pesar del gran potencial y del amplio uso medicinal de los helechos y licófitos (Cao *et al.*, 2017; Abraham & Thomas, 2022; Antony & Suresh, 2022; Kholia & Balkrishna, 2022; Marimuthu *et al.*, 2022 entre otros), son escasos los estudios que abordan sus endosimbiosis fúngicas radicales en helechos medicinales en Asia (Muthukumar *et al.*, 2007; Zhang *et al.* 2022) y Norteamérica (Hodson *et al.*, 2009; De la Rosa Mera *et al.*, 2012; Chávez-Hernández *et al.*, 2021). En Sudamérica, los reportes sobre licófitos y helechos (Fernández *et al.*, 2008, 2010, 2012a, b; Hernández *et al.*, 2008), han incluido algunas especies registradas como medicinales (Barboza *et al.*, 2006), aunque el carácter medicinal de los hospedantes no fue parte del objetivo de estudio en ninguno de ellos. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de simbiosis con HMA y SO, cuantificar la colonización por estos endófitos radicales, caracterizar el tipo de colonización MA en helechos nativos y medicinales en las Sierras Centrales de San Luis en la región Chaqueña de la Argentina, y discutir sus posibles implicancias y aplicación en su cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y diseño de muestreo

En el centro-oeste de Argentina, en las Sierras Centrales de San Luis, localidad El Volcán, Cuesta del Gato, provincia de San Luis, se establecieron tres sitios de muestreo a ca. 900 m s.n.m.: Sitio A (33° 15' 0.16'' S, 66° 12' 46.8'' O), Sitio B (33° 15' 1.6'' S, 66° 12' 48'' O) y Sitio C (33° 15' 0'' S, 66°

12' 59.3'' O) (Fig. 1). En cada sitio se recolectaron entre nueve y diez individuos de helechos nativos, los que posteriormente se procesaron para la determinación de su colonización radical por HMA y SO. Las partes aéreas de los materiales cuyas raíces fueron analizadas, más tres individuos completos de cada especie recolectada, fueron herborizados para su identificación taxonómica y conservación como *vouchers* en la Micoteca MICODIF (Unidad 266 360-SNDB-UNSL, Argentina) registrada en el Index Herbariorum (<https://sweetgum.nybg.org/science/ih/herbarium-details/?irn=257568>).

Material estudiado

Anemia tomentosa (Savigny) Sw. var. *anthriscifolia* (Schrad.) Mickel. ARGENTINA. Prov. San Luis: Dpto. Juan Martín de Pueyrredón, El Volcán, Sierras Centrales de San Luis, Cuesta del Gato, 27-II-2014, Torres *et al.* 1, 3, 5, 7 (MICODIF). *Argyroschisma nivea* (Poir.) Windham var. *nivea*. ARGENTINA. Prov. San Luis: ídem, Torres *et al.* 10, 11 (MICODIF). *Cheilanthes buchtienii* (Rosenst.) R.M. Tryon. ARGENTINA. Prov. San Luis: ídem, Torres *et al.* 12 (MICODIF). *Myriopteris myriophylla* (Sw.) Sw. ARGENTINA. Prov. San Luis: ídem, Torres *et al.* 13 (MICODIF). *Pleopeltis pinnatifida* Gillies ex Hook. & Grev. ARGENTINA. Prov. San Luis: ídem, Torres *et al.* 14 (MICODIF).

Especies de helechos nativos estudiados

Se analizaron cinco especies nativas de helechos (Fig. 2): *Anemia tomentosa* (Savigny) Sw. var. *anthriscifolia* (Schrad.) Mickel (Anemiaceae), *Pleopeltis pinnatifida* Gillies ex Hook. & Grev. (Polypodiaceae), *Argyroschisma nivea* (Poir.) Windham var. *nivea*, *Cheilanthes buchtienii* (Rosenst.) R.M. Tryon y *Myriopteris myriophylla* (Sw.) Sw. (Pteridaceae). Todos los taxones estudiados presentan registros de sus usos medicinales populares en la región de estudio del centro-oeste de la Argentina (Roig, 2002; Barboza *et al.*, 2006; 2009). Así, *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia* se utiliza como béquico y expectorante; *Argyroschisma nivea* var. *nivea* como emenagogo, laxante, diaforético, contra el dolor de cabeza y la sinusitis, pectoral y estornutatorio; *Myriopteris myriophylla* como diaforético y pectoral, y *Cheilanthes buchtienii* y *Pleopeltis pinnatifida* como abortivos (Roig, 2002; Barboza *et al.*, 2006; 2009).



Fig. 1. Localización geográfica de los sitios de muestreo (A, B, C) en el área de estudio (recuadro amarillo) de las Sierras Centrales de San Luis, provincia de San Luis, Argentina.

Determinación de la colonización radical por HMA y SO

En las raíces de las especies de los helechos recolectados, se aplicaron las técnicas de clarificación y tinción que permitieron observar la colonización radical de los HMA y SO, siguiendo la metodología de Phillips y Hayman (1970), con modificaciones leves como el agregado de peróxido de oxígeno (10% V/V) para clarificar las raíces intensamente pigmentadas. Las muestras teñidas se analizaron al microscopio óptico a 400x, para determinar la presencia de los endófitos radicales (HMA, SO) y la intensidad de colonización (medida como porcentaje de colonización) en cada uno de los individuos de los helechos nativos recolectados. El porcentaje de colonización se cuantificó por el método de McGonigle *et al.* (1990); para los HMA las variables evaluadas fueron los porcentajes de arbuscúlos (%A), vesículas (%V) y colonización hifal MA (%H); mientras que para los SO, las variables cuantificables fueron la colonización hifal SO (%H-SO) y el porcentaje de microesclerocios (%ME-SO). El tipo de colonización por HMA se caracterizó considerando la propuesta de Dickson (2004) con

los morfotipos principales *Arum* (definido por el crecimiento intercelular de las hifas y la formación de arbuscúlos conspicuos intracelulares) y *Paris* (con hifas colonizando siempre intracelularmente en las células hospedantes, replegándose formando circunvoluciones con ramificaciones que originan pequeños arbuscúlos o circunvoluciones arbusculadas) como los tipos extremos de un continuo morfo-anatómico del desarrollo del hongo en la raíz hospedante. Los preparados fijados en alcohol polivinílico (Omar *et al.*, 1979) se resguardaron como *vouchers* en la Micoteca MICODIF (Unidad 266-360 SNDB-UNSL, Argentina).

Análisis de los datos

Las variables evaluadas (%A, %V y %H), no presentaron distribución homogénea de sus varianzas aplicando la prueba de Levene y fueron analizadas aplicando el test de la varianza no paramétrica de Kruskal Wallis (Infostat estudiantil, <https://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=37&lang=es>/<https://infostat.dirienzo.com.ar/estudiantil/>).

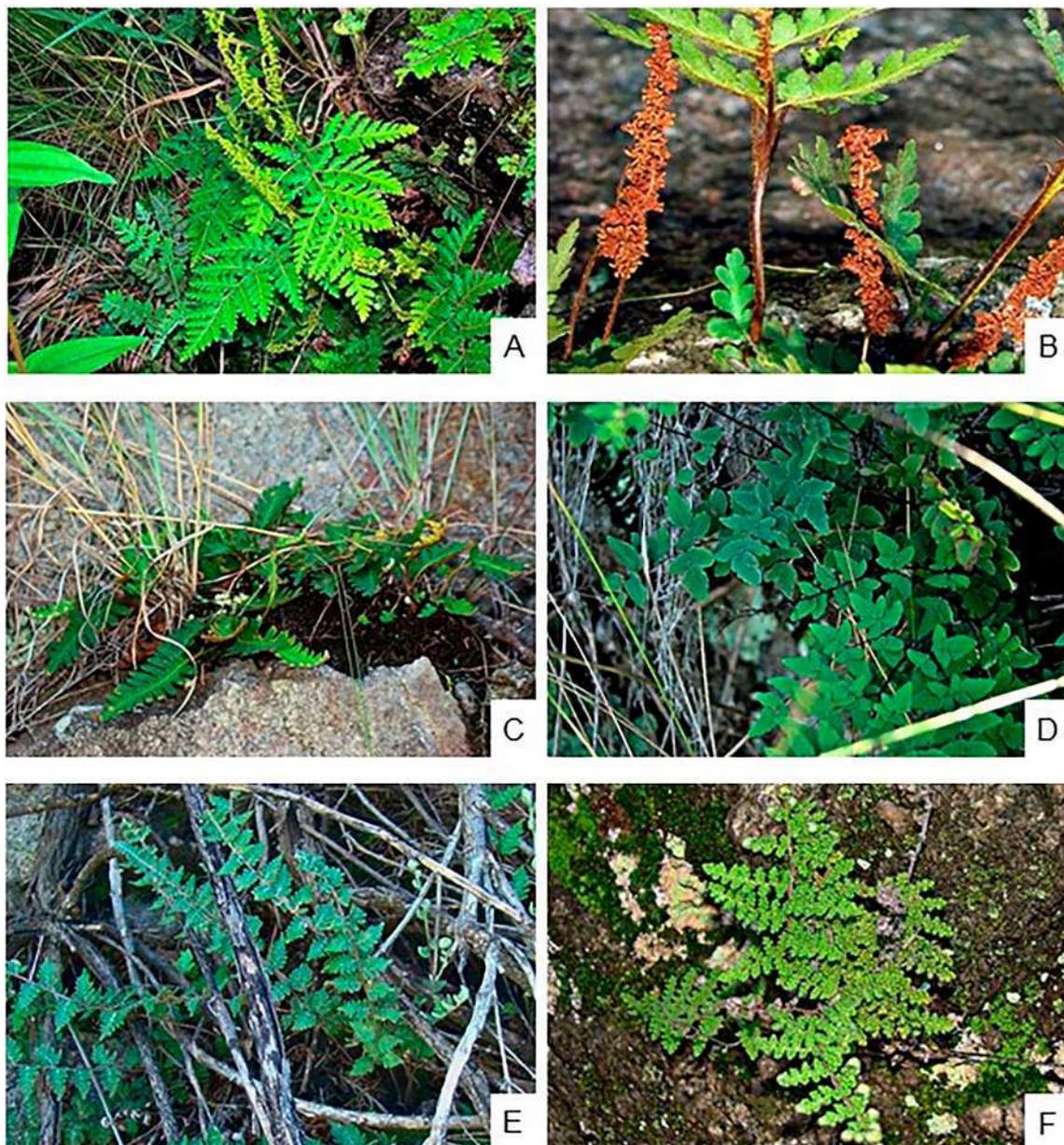


Fig. 2. Helechos medicinales nativos estudiados en las Sierras Centrales de San Luis. **A:** *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia* con pinnas fértiles inmaduras. **B:** con pinnas fértiles maduras. **C:** *Pleopeltis pinnatifida*. **D:** *Argyrochosma nivea* var. *nivea*. **E:** *Cheilanthes buchtienii*. **F:** *Myriopteris myriophylla*.

RESULTADOS

Detección de los endófitos radicales

La asociación micorrícica arbuscular (MA) sólo se detectó en una de las especies estudiadas, *A. tomentosa*

var. *anthriscifolia*, Anemiaceae; el resto de las especies analizadas no formaron MA (Tabla 1, Fig. 3). En relación a los microesclerocios-SO (%ME-SO) y la colonización hifal-SO (%H-SO), no estuvieron presentes en ninguna de las especies estudiadas (Tabla 1).

Tabla 1. Colonización radical por endófitos fúngicos en helechos medicinales nativos de las Sierras Centrales de San Luis, Argentina. Abreviaturas= MA: micorrizas arbusculares; SO: septados oscuros.

Familia	Especies	Sitio	MA	SO
Anemiaceae	<i>Anemia tomentosa</i> var. <i>anthriscifolia</i>	A, B, C	Paris	-
Polypodiaceae	<i>Pleopeltis pinnatifida</i>	B	-	-
Pteridaceae	<i>Argyrochosma nivea</i> var. <i>nivea</i>	A	-	-
	<i>Cheilanthes buchtienii</i>	A	-	-
	<i>Myriopteris myriophylla</i>	C	-	-

Determinación del tipo de colonización y el porcentaje de colonización por HMA

Los individuos *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* de todos los sitios muestreados presentaron colonización por HMA típica del morfotipo *Paris* (Fig. 3). Las raíces, con numerosos pelos radicales, estuvieron colonizadas sólo por hifas y vesículas de HMA (Fig. 3A); cuando estuvieron colonizadas además por circunvoluciones arbusculadas y circunvoluciones, la cantidad de pelos radicales fue escasa (Fig. 3B). Además, en la rizosfera se observaron esporas glomoides de pequeño tamaño, en su mayoría de un diámetro de entre 10-20 μm , mientras que algunas presentaron dimensiones mayores (40-50 μm de diámetro) (Fig. 3C, D). En el sitio A la colonización radical presentó hifas gruesas, con ensanchamientos diferenciales de la pared hifal, otorgándoles el aspecto irregular característico de los HMA. Estas hifas también se observaron por fuera del hospedante, adelgazándose y dividiéndose en hifas más finas en las zonas de ingreso a la raíz (en los puntos de entrada), intercelularmente entre las células epidérmicas del hospedante y más frecuentemente a través de pelos radicales (Fig. 3E). Intracelularmente se observaron abundantes circunvoluciones arbusculadas y circunvoluciones (Fig. 3F). Las vesículas fueron siempre intracelulares y similares en todas las muestras en lo que respecta a la variabilidad de sus formas (cilíndricas, elipsoidales, claviformes, esféricas, subesféricas, irregulares); el número de vesículas intracelulares fue variable, de 1 a 6 por célula del hospedante (Fig. 4A). En el sitio B, si bien la colonización fue del tipo *Paris*, en la mayoría de las raíces el porcentaje de colonización fue escaso; las hifas intrarradicales fueron irregulares, en ocasiones finas; las vesículas intracelulares fueron irregulares, alargadas, cilíndricas, con gúttulas en su interior (Fig. 4B). Las raíces de los individuos del

sitio C presentaron hifas intracelulares irregulares y gruesas, formando abundantes circunvoluciones arbusculadas. Las vesículas, de formas variables e irregulares (Fig. 4C), esféricas, cilíndricas u ovadas (Fig. 4D), fueron siempre intracelulares y más de una por célula hospedante. En los tres sitios se registraron los puntos de entrada de la colonización predominantemente a través de los pelos radicales, que fueron muy abundantes (Fig. 3A, E).

A. tomentosa var. *anthriscifolia* (Anemiaceae, Schizaeales) fue el único helecho asociado formando MA (Figs. 3, 4). No hubo diferencias significativas entre los tres sitios de muestreo (A, B y C) para ninguna de las variables de colonización analizadas (Fig. 5). En los sitios A, B y C, respectivamente, la colonización MA tuvo valores medios de colonización hifal (%H: 24,83; 11,97; 14,25) (Fig. 5). En general fueron bajos los porcentajes de arbusculos (%A: 7,06; 2,00; 1,75), excepto en el sitio A (7,06%) y también los porcentajes de vesículas (%V: 2,61; 2,53; y 3,60) (Fig. 5). Los SO estuvieron ausentes en todas las raíces analizadas de todas las especies de helechos estudiadas en los tres sitios de muestreo.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La información de las interacciones fúngicas asociadas a los sistemas radicales de helechos y licófitos es escasa a nivel mundial (Kessler *et al.*, 2010; Pressel *et al.*, 2016; Lehnert *et al.*, 2017) y también en Sudamérica (Pagano & Cabello, 2012; Godoy & Marín, 2019; Lugo & Menoyo, 2019; Lugo & Pagano, 2019, 2022; Fontenla *et al.*, 2022; Marín *et al.*, 2022), donde nuestro país tampoco es una excepción. En Argentina solo fueron estudiadas estas simbiosis fúngicas en la Patagonia, en ecosistemas boscosos templados

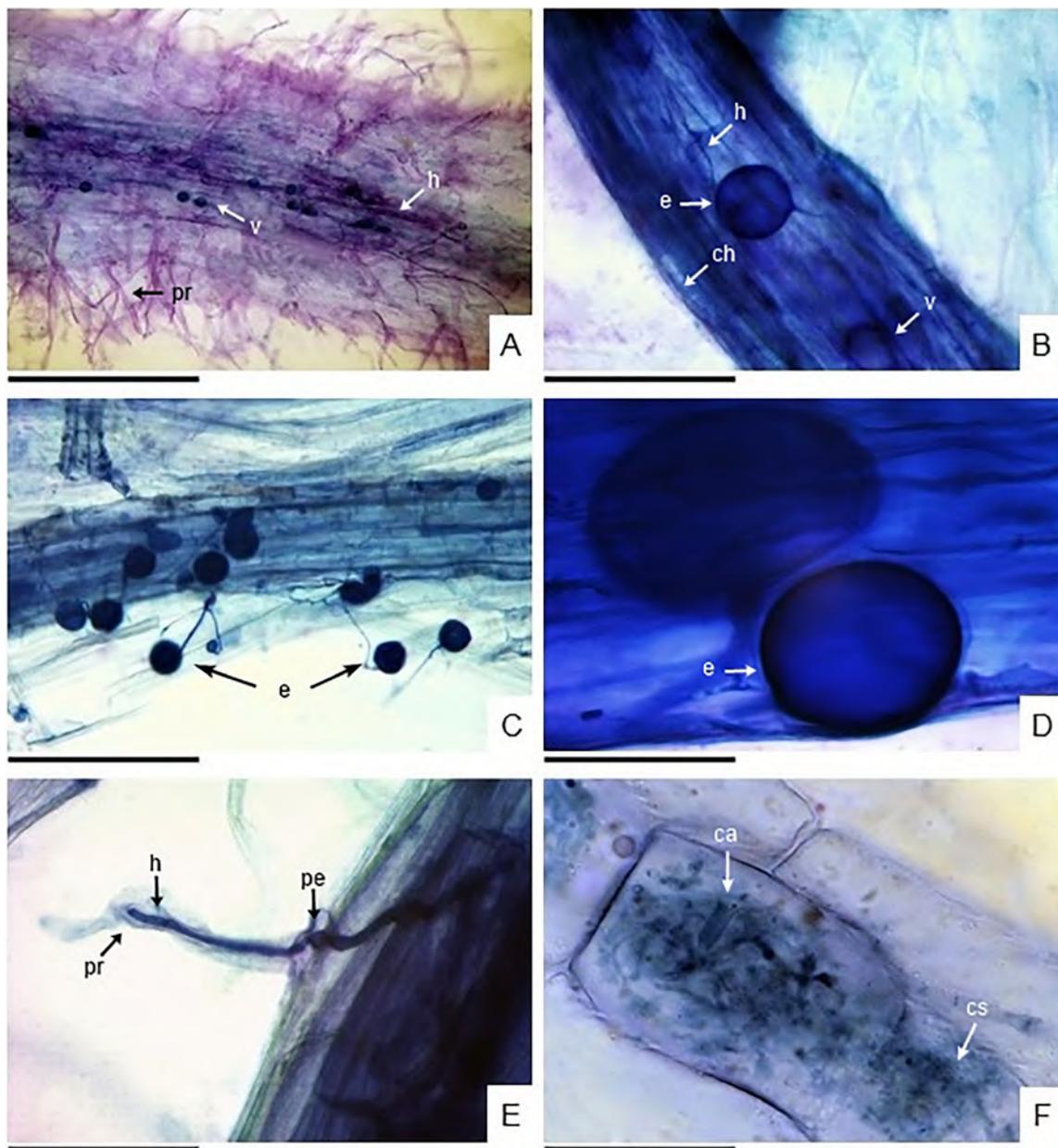


Fig. 3. Estructuras de los HMA colonizando las raíces de *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*. **A:** Raíces con numerosos pelos radicales, colonizadas por hifas y vesículas de HMA. **B:** Raíces con escasos pelos radicales, colonizadas por hifas, circunvoluciones hifales y circunvoluciones arbusculadas. **C:** Esporas de HMA colonizando la rizosfera del hospedante. **D:** Detalle de una espора de HMA en la rizosfera del hospedante. **E:** Punto de entrada de la colonización en la raíz mediante un pelo radical. **F:** Circunvoluciones intracelulares hifales, arbusculadas y senescentes. Escalas= A-C, E: 100 μ m; D, F: 40 μ m. Abreviaturas= ca: circunvolución arbusculada; ch: circunvolución hifal; cs: circunvolución senescente; e: esporas; h: hifa; HMA: hongos micorrícicos arbusculares; pe: punto de entrada; pr: pelo radical; v: vesícula.

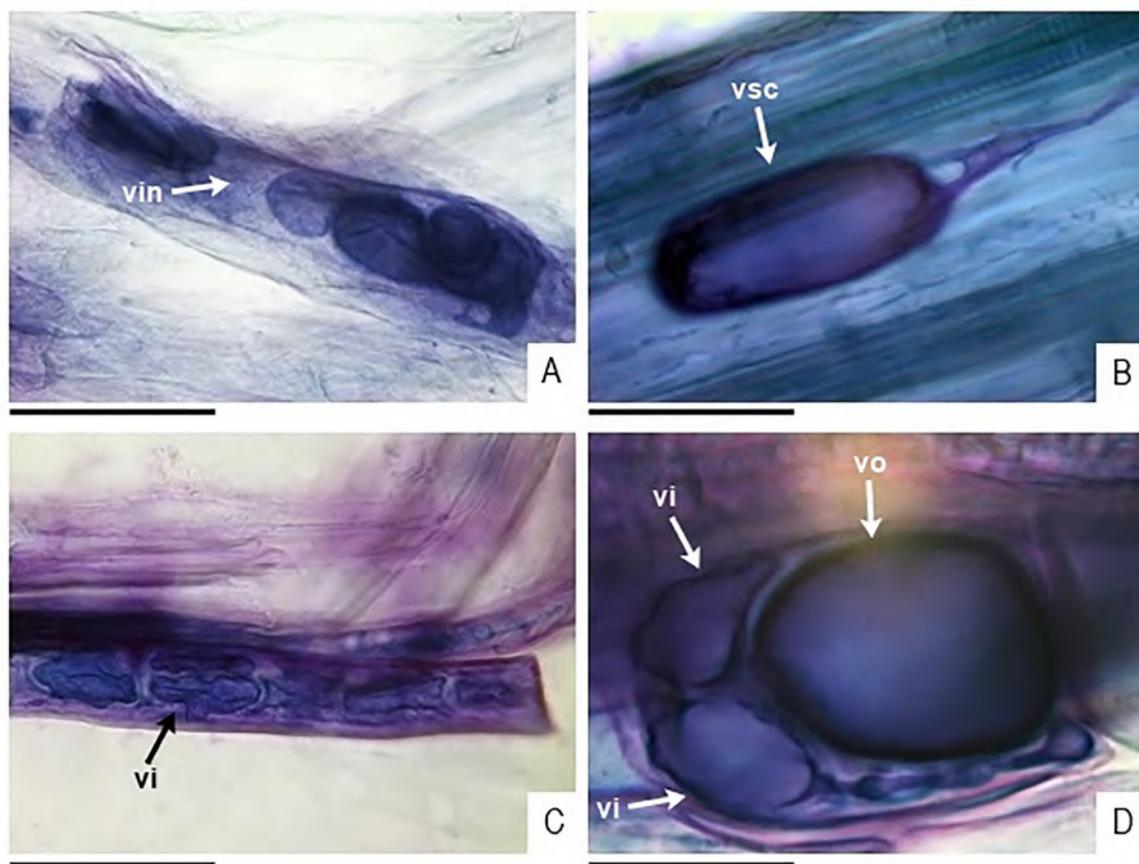


Fig. 4. Estructuras vesiculares de los HMA colonizando las raíces de *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*. **A:** Vesículas intracelulares, solitarias o numerosas colonizando la célula hospedante. **B:** Vesículas intracelulares solitarias cilíndricas. **C:** Vesículas intracelulares irregulares. **D:** Vesículas intracelulares ovoides. Escalas= A, C: 100 μ m; B, D: 40 μ m. Abreviaturas= HMA: hongos micorrízicos arbusculares; vi: vesícula irregular; vin: vesículas intracelulares numerosas; vo: vesícula ovoide; vsc: vesícula solitaria cilíndrica.

húmedos (Fernández *et al.* 2008, 2010, 2012ab), secos a subhúmedos (Fontenla *et al.*, 1998) y en la estepa (Fontenla *et al.*, 2001); en el Noroeste en las selvas húmedas y de altura de las Yungas (Albornoz & Hernández, 2006; Becerra *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2008, 2010) y en bosques del Chaco Serrano cordobés (Menoyo *et al.*, 2007; Fracchia *et al.*, 2009). En este trabajo se aportan nuevos datos sobre las simbiosis con endófitos fúngicos HMA y SO en el centro-oeste del Chaco Serrano para la región Cuyana, en la provincia de San Luis.

A diferencia de otros ambientes de nuestro país (Albornoz & Hernández, 2006; Menoyo *et*

al., 2007; Fernández *et al.*, 2008, 2010, 2012a, b; Hernández *et al.*, 2008; Fontenla *et al.*, 2022), en las Sierras Centrales de San Luis las especies de Polypodiaceae y Pteridaceae estudiadas no estuvieron colonizadas por HMA ni tampoco por SO. En el caso de la Polypodiaceae endémica *Pleopeltis pinnatifida*, esta falta de colonización podría estar relacionada con su hábito epífita o epipétrico (De la Sota *et al.*, 2009). En las Pteridaceae nativas estudiadas, *Argyrochosma nivea* var. *nivea* y *Cheilanthes buchtienii* (comunes en lugares expuestos, saxícolas o saxícolas y terrestres, respectivamente) y *Myriopteris myriophylla* (que puede habitar ambientes muy diversos, desde

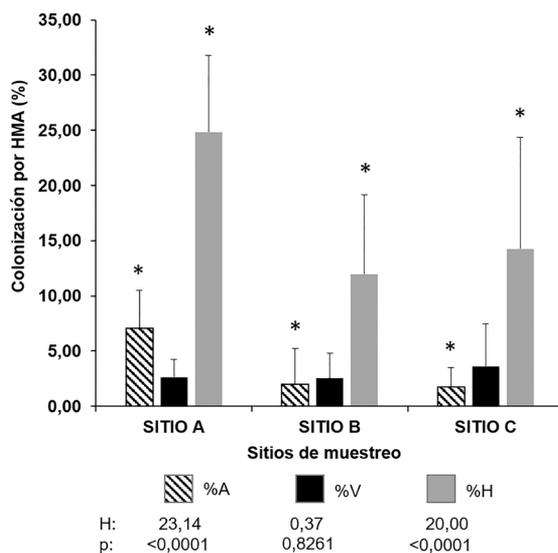


Fig. 5. Porcentaje de colonización por hongos micorrícicos arbusculares en raíces de *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* en los tres sitios de muestreo de las Sierras Centrales de San Luis. Abreviaturas= A%: porcentaje de arbuscúlos; V%: porcentaje de vesículas; H% porcentaje de colonización hifal. Los datos graficados son promedios \pm el desvío estándar de cada variable. Símbolo= *: las diferencias significativas entre sitios para las variables analizadas por Kruskal Wallis.

hábitats rocosos y sombríos hasta muy expuestos) (De la Sota *et al.*, 2009), serían otros los factores que explicarían la ausencia de colonización, como la disponibilidad de agua y nutrientes en cada hábitat, estrés ambiental o el exceso de exposición solar. Así, otras especies del género *Cheilanthes* y *M. myriophylla* sí estuvieron asociadas a estos simbiontes radicales en otros ecosistemas del noroeste de nuestro país (Hernández *et al.*, 2008). En Anemiaceae, Fracchia *et al.* (2009) detectaron la presencia de MA en ejemplares de *A. tomentosa* (Anemiaceae = Schizaeaceae, Schizaeales) en la Sierra de Comechingones (Córdoba), aunque no se analizaron variedades de esta especie. En las Sierras Centrales de San Luis *A. tomentosa* var. *anthriscifolia*, Anemiaceae, resultó ser el único hospedante de simbiontes fúngicos y solo se asoció a HMA; además, en esta variedad el tipo de colonización fue *Paris* en las tres poblaciones

estudiadas y coincide con la morfología de la colonización MA para la especie *A. tomentosa* en la Sierra de Comechingones (Fracchia *et al.*, 2009).

Las MA son el tipo de micorrizas predominante entre las plantas terrestres (Brundrett & Tedersoo, 2018), detectadas frecuentemente en el grupo basal de las plantas sin semillas, los helechos y licófitos (Lehnert *et al.*, 2017). Debido a esta posición evolutiva clave de estos hospedantes, se consideran a los HMA como los simbiontes fúngicos ancestrales que actuaron como factor determinante para la colonización del ambiente terrestre por las primeras plantas vasculares (Wang & Qiu, 2006; Kessler *et al.*, 2010; Lehnert *et al.*, 2017). Evolutivamente, entre las plantas sin semillas, los licófitos son un grupo basal en la filogenia, mientras que entre los helechos, los órdenes y familias estudiadas en San Luis son todos helechos leptosporangiados incluidos en Polypodiopsida (Schuettpehlz *et al.*, 2016; Nitta *et al.*, 2022), siendo Anemiaceae (Schizaeales) integrante basal del grupo; en cambio, Polypodiaceae y Pteridaceae, como familias de Polypodiales, se ubican en clados derivados en la filogenia (Cole *et al.*, 2022). Los resultados obtenidos en este trabajo son parcialmente congruentes con estos datos, por la presencia de colonización en los representantes basales de Anemiaceae y por su ausencia en las especies del clado derivado Polypodiaceae.

Para las especies incluidas en Pteridaceae, los resultados son contradictorios y difieren de los hallados en la Yunga, en donde *Pellaea ternifolia* subsp. *ternifolia* (Albornoz & Hernández, 2006), *C. pruinata* y *M. myriophylla* (= *C. myriophylla*) presentaron colonización MA (Hernández *et al.*, 2008) y dual MA-SO en *Dryopteris concolor* (Hernández *et al.*, 2010); en Patagonia, ambos tipos de colonización (MA y SO) fueron detectadas co-colonizando las raíces de diversos grupos de plantas (Fernández *et al.*, 2012a, b; Fontenla *et al.*, 2022); mientras que las Pteridaceae de las Sierras Centrales de San Luis (*C. buchtienii* y *M. myriophylla*) no estuvieron colonizadas por HMA ni por SO. Esto podría deberse a diferentes factores, tales como la disponibilidad diferencial de inóculos fúngicos en los suelos de los distintos hábitats, las condiciones ambientales y fisicoquímicas como la humedad del suelo, el pH, la cantidad de carbono orgánico que pueden afectar la colonización y disturbios en el ambiente (Fernández *et al.*, 2008).

Así, las Pteridaceae *C. buchtienii* y *M. myriophylla* pueden considerarse como especies micorrícicas facultativas, ya que pueden o no asociarse a HMA dependiendo de las condiciones ambientales a las que están expuestas. En cambio, *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* (Anemiaceae) sería un taxón micorrícico obligado ya que resultó colonizada formando MA en los tres sitios estudiados, sumado a que Anemiaceae ha sido considerada como una familia con la máxima frecuencia de micorrización a nivel mundial (Lehnert *et al.*, 2017). Sin embargo, se requieren más estudios a lo largo de la distribución de *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* para confirmar su *status* micorrícico, ya que su colonización micorrícica coexistió junto con abundantes pelos radicales y la presencia de numerosos pelos radicales es común en plantas no micorrícicas o micorrícicas facultativas (Janos, 1980; Lehnert *et al.*, 2017; Brundrett & Tedersoo, 2018).

La colonización tipo *Paris* en helechos nativos se ha registrado en especies terrestres de las familias Blechnaceae, Dicksoniaceae (= Lophosoriaceae), Dryopteridaceae, Gleicheniaceae y Pteridaceae formando MA como hospedantes micorrícicos “consistentemente colonizados” por HMA (Fernández *et al.*, 2012a, b). Así, nuestros resultados incorporan a las Anemiaceae nativas a este grupo de hospedantes “consistentemente colonizados” que podrían considerarse como micorrícicos obligados mientras se constaten sus simbiosis micorrícicas en su extensa área de distribución.

En la evolución de los helechos y licófitos hubo una reducción de la dependencia micorrícica correlacionada con la disminución del diámetro de las raíces, un aumento de los pelos radicales junto con la adquisición del hábito epífita y la disminución de la colonización micorrícica (Schuettpelez & Pryer, 2009; Lehnert *et al.*, 2017; Brundrett & Tedersoo, 2018). En nuestro país, los integrantes epífitos de Polypodiaceae han sido considerados no micorrícicos en el bosque valdiviano (Fernández *et al.*, 2010, 2012a, b) y en el Palmar del Espinal (Velázquez *et al.* 2010); por el contrario, estuvieron asociados formando MA en bosques de *Polylepis* del Chaco serrano (Menoyo *et al.*, 2007). La ausencia de asociación micorrícica en Polypodiaceae podría asociarse al tipo de hábitat epífita como también ocurre en Hymenophyllaceae y Gleicheniaceae distribuidas

en regiones biogeográficas muy diferentes como los bosques templados húmedos de la Patagonia y el Palmar del Espinal (Fernández *et al.*, 2010, 2012a, b; Velázquez *et al.*, 2010). Por el contrario, los representantes terrestres y saxícolas de esta familia son micorrícicos en bosques templados húmedos patagónicos, Yunga y los bosques de *Polylepis* en el Chaco Serrano (Becerra *et al.*, 2007; Menoyo *et al.*, 2007; Fernández *et al.* 2012a, b). *Pleopeltis pinnatifida*, especie saxícola y epífita (De la Sota *et al.*, 2009), no estuvo colonizada en las Sierras Centrales de San Luis. Esta falta de asociación estaría relacionada al hábito epífita y saxícola de la especie. Además, la ausencia de colonización en los helechos en general y las Polypodiaceae en particular, podría deberse a la coevolución planta-simbionte fúngico, ya que esta familia incluye al grupo de helechos denominados “no-grammítidos” de la subfamilia Polypodioideae (Schuettpelez *et al.*, 2016) que evolutivamente ha perdido la simbiosis MA, independizándose de la asociación simbiótica en sus raíces como una vía nutricional para la planta (Janos, 2007; Lehnert *et al.*, 2009, 2017). Contrariamente, los representantes “grammítidos” de la subfamilia monofilética Grammitidoideae (Zhou *et al.*, 2023), continuaron utilizando sus simbiosis radicales como un modo efectivo de adquirir sus nutrientes y presentan altas tasa de colonización por HMA (Lehnert *et al.*, 2017). La ausencia de colonización en los individuos saxícolas de *P. pinnatifida* indicarían el carácter facultativo de las simbiosis MA en esta especie de Polypodiaceae.

La hipótesis de Baylis (1975), establece que la dependencia micorrícica está relacionada con la arquitectura radical y de manera inversa con la cantidad y longitud de sus pelos radicales. Así, cuando las raíces tuvieran escasos pelos radicales y ramificaciones, los hospedantes dependerían más de sus simbiosis micorrícicas para la adquisición de nutrientes que aquéllos con las raíces finamente ramificadas o con abundantes pelos radicales (Fitter, 2004). En todos los sitios muestreados se observaron pelos radicales en las raíces colonizadas, una desventaja para el costo-beneficio de la planta cuando los nutrientes del suelo podrían estar al alcance gracias a la interacción con los HMA. Sin embargo, fueron estos mismos pelos radicales los que funcionan como puntos de entrada para la colonización de los HMA, lo que podría indicar que

su formación antecede a la asociación simbiótica y aportaría evidencias para reforzar la hipótesis sobre el carácter facultativo de la asociación de *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* con los HMA, en oposición a la hipótesis de que este helecho forma simbiosis obligada con estos hongos, basada en su constante presencia en todas las poblaciones estudiadas de esta variedad y en el taxón específico en otras áreas del Chaco Serrano del país (Fracchia *et al.*, 2009). Por otra parte, el carácter facultativo de la simbiosis ha sido mencionado como una característica muy común en helechos; la presencia o ausencia de simbiontes en las raíces y el grado de dependencia micorrícica en este grupo basal de plantas vasculares estaría supeditada no sólo a la anatomo-morfología de las raíces de los hospedantes sino a la disponibilidad de nutrientes en el sustrato (Janos, 1993, 2007; Brundrett, 2002; Fernández *et al.*, 2010; Martínez *et al.*, 2012; Pressel *et al.*, 2016). Esta hipótesis ampliamente aceptada aún no ha sido totalmente demostrada. Por esta razón, siguiendo la propuesta de Baylis (1975) sobre un continuo para la dependencia micorrícica desde la condición facultativa a la obligada, la ausencia de colonización en plantas reproductivamente maduras indicaría que la asociación puede ser facultativa. Al mismo tiempo, el registro de la asociación activa en el hospedante no implicaría que la interacción sea exclusivamente obligada, porque las raíces muestreadas y analizadas representan una fracción dispersa del total de raíces colonizadas del hospedante, sumada a la discontinuidad temporal que afecta al muestreo y que influye directamente sobre estas interacciones por su comportamiento estacional (Smith & Read, 2008), también registrado en áreas del Chaco Serrano (Lugo & Cabello, 2002; Lugo *et al.*, 2003).

La colonización MA de *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* en las Sierras Centrales de San Luis fue del tipo *Paris*. Este tipo de colonización micorrícica es considerado como el más frecuente en las comunidades naturales de plantas terrestres (Brundrett & Kendrick, 1990a, b) y predominante en los helechos y licófitos (Smith & Smith, 1997). Los resultados obtenidos confirman a *Paris* como el morfotipo típico de la asociación MA en *A. tomentosa* var. *anthriscifolia*, ya que esta morfología de colonización se encontró en los individuos analizados en los tres sitios muestreados. Además, se observaron hifas de HMA colonizando las

raíces de *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* a través de pelos radicales, una característica muy común en helechos y licófitos a nivel mundial (Brundrett, 2002; Dickson, 2004; Zhang *et al.*, 2004; Smith & Read, 2008; Pressel *et al.*, 2016), coincidiendo con los registros previos de MA en las especies nativas de la Patagonia (Fernández *et al.*, 2012b).

A. tomentosa var. *anthriscifolia* es una especie nativa con reconocidos usos en medicina popular de sus frondes como béquico y expectorante, con una amplia distribución que abarca desde la selva misionera hasta el litoral del Río de la Plata, a lo largo de toda la llanura del centro-oeste del país (Barboza *et al.*, 2006), llegando a América Meridional, Bolivia, Brasil y Paraguay (De la Sota *et al.*, 2009). Otras especies nativas del género *Anemia*, como *A. australis* (= *A. tomentosa* var. *australis*) son popularmente utilizadas y tienen un amplio mercado comercial como hierbas medicinales (Luján *et al.*, 2000). Son escasos los trabajos exploratorios enfocados en las plantas medicinales nativas y sus simbiosis radicales (Polanco & Lugo, 2005) y las especies estudiadas fueron angiospermas. Los resultados de este trabajo aportan nueva información sobre las asociaciones con endófitos fúngicos en raíces de helechos medicinales y nativos. La detección de la simbiosis MA en *A. tomentosa* var. *anthriscifolia*, del tipo *Paris* y consistentemente establecida en las poblaciones estudiadas del Chaco Serrano en San Luis es información de base que podrá utilizarse en estudios para profundizar los efectos de esta simbiosis en este helecho medicinal, con especial interés en los beneficios que puedan conferirles los HMA en cuanto a la producción de principios activos de interés farmacéutico medicinal o aplicable a perfumería como sus aceites esenciales (Santos *et al.*, 2006; Pinto *et al.*, 2013). Además, la implementación del cultivo de *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* podría contribuir a su utilización como planta ornamental. Estas metodologías de cultivo que involucran la inoculación con hongos micorrícicos, previa detección de la presencia de simbiontes HMA en otras especies nativas de amplio uso en medicina popular, serían beneficiosas tanto para su producción como para la biodiversidad de los ambientes serranos. Además, esta información podrá implementarse para favorecer la propagación para la comercialización con fines ornamentales de este helecho nativo considerado con potencial para floricultura (Morero *et al.*, 2014).

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

MLT realizó predominantemente con la colaboración de ML y MCC la recolección y acondicionamiento de los materiales vegetales para su posterior análisis, aplicó las metodologías utilizadas, analizó las muestras y los resultados obtenidos. La discusión de los datos, la elaboración de las conclusiones y la redacción del manuscrito de este trabajo fueron realizados mayoritariamente por MLT y ML con la revisión crítica de EMC y MCC del manuscrito original. La redacción del texto en inglés es responsabilidad de ML.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos especialmente la colaboración de la Microb. Hebe J. Iriarte (CPA del IMIBIO-UNSL-CONICET-CCT SL) en la elaboración de las Figuras y Tablas de este trabajo. Este trabajo fue financiado con fondos del PROICO 02-2023-FQByF (Universidad Nacional de San Luis). Además, para llevar adelante este trabajo, MLT fue beneficiaria de una Beca Estímulo financiada por FQByF (SeCyT, Universidad Nacional de San Luis). M. A. Lugo es Investigadora del IMIBIO-UNSL-CONICET-CCT SL.

BIBLIOGRAFÍA

- ABRAHAM, S. & T. THOMAS 2022. Ferns: A potential source of medicine and future prospects. En: MARIMUTHU, J., H. FERNÁNDEZ, A. KUMAR & S. THANGAIAH (eds.), *Ferns*, pp. 345-378. Springer, Singapore.
- AHULU, M. E., M. NAKATA & M. NONAKA. 2005. *Arum*- and *Paris*-type arbuscular mycorrhizas in a mixed pine forest on sand dune soil in Niigata Prefecture, central Honshu, Japan. *Mycorrhiza* 15: 129-36. <https://doi.org/10.1007/s00572-004-0310-9>
- ALBORNOZ, P. L. & M. HERNÁNDEZ. 2006. Anatomía y endomicorrizas en *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia* (Pteridaceae) en Tucumán. *Lilloa* 43: 13-21.
- ANDERSON, O.R. 2021. Physiological ecology of ferns: Biodiversity and conservation perspectives. *Inter. J. Biodiv. Conserv.* 13: 49-63. <https://doi.org/10.5897/IJBC2021.1482>
- ANTONY, R. & S. SURESH. 2022. Ethnobotanical uses of ferns and lycophytes of Kerala. En: MARIMUTHU, J., H. FERNÁNDEZ, A. KUMAR & S. THANGAIAH (eds.), *Ferns*, pp. 413-432. Springer, Singapore.
- BARBOZA, G. E., J. J. CANTERO, C. O. NUÑEZ & L. ARIZA ESPINAR. 2006. *Flora Medicinal de la Provincia de Córdoba (Argentina): Pteridófitas y Antófitas silvestres o naturalizadas*. Museo Botánico de Córdoba, Córdoba.
- BARBOZA, G. E., J. J. CANTERO, C. O. NUÑEZ, A. PACCIARONI & L. ARIZA ESPINAR. 2009. Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. *Kurtziana* 34: 7-365.
- BARROW, J. R. 2003. Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands. *Mycorrhiza* 13: 239-247. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0222-0>
- BAYLIS, G. T. S. 1975. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. En: SANDERS F. E., B. MOSSE & P. B. TINKER (eds.), *Endomycorrhizas*, Proceedings of a Symposium held at the University of Leeds, 22-25 July 1974, pp. 373-389. Academic Press, London.
- BECERRA, A., M. CABELLO & F. CHIARINI. 2007. Arbuscular mycorrhizal colonization of vascular plants from the Yungas forests, Argentina. *Ann. For. Sci.* 64: 765-772.
- BONFANTE, P. & A. GENRE. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat. Commun.* 1: 48. <https://doi.org/10.1038/ncomms1046>
- BRUNDRETT, M. C. 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.* 154: 275-304.
- BRUNDRETT, M. C. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol. Rev.* 78: 473-495.
- BRUNDRETT, M. C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320: 37-77. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9877-9>
- BRUNDRETT, M. & B. KENDRICK. 1990a. The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants. I. Quantitative aspects of morphology. *New Phytol.* 114: 457-468.
- BRUNDRETT, M. & B. KENDRICK. 1990b. The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants. II.

- Structural aspects of morphology. *New Phytol.* 114: 469-479.
- BRUNDRETT, M. C. & L. TEDERSOO. 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytol.* 220: 1108-1115. <https://doi.org/10.1111/nph.14976>
- CHÁVEZ-HERNÁNDEZ, C. G., C. C. BARRERA AGUILAR, G. J. TÉLLEZ ESPINOSA, E. CHIMAL-SÁNCHEZ & R. GARCÍA-SÁNCHEZ. 2021. Colonización micorrízica y comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares en plantas medicinales del bosque templado “Agua Escondida”, Taxco, Guerrero, México. *Sci. Fungorum* 51:e1325. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.51.1325>
- CAO, H., T.-T. CHAI, X. WANG, M. F. B. MORAIS-BRAGA, ..., & H. D. M. COUTINHO. 2017. Phytochemicals from fern species: potential for medicine applications. *Phytochem. Rev.* 16: 379-440. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9488-7>
- DE LA ROSA-MERA, C. J., R. FERRERA-CERRATO, A. ALARCÓN, M. J. SÁNCHEZ-COLÍN & A. FRANCO-RAMÍREZ. 2012. Aislamiento de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares de plantas medicinales y su efecto en el crecimiento de vinca (*Catharanthus roseus*). *Rev. Chil. Hist. Nat.* 85: 187-198. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2012000200005>
- DE LA SOTA, E. R., M. M. PONCE & L. CASSA' DE PAZOS. 1998. Pteridophyta. En: CORREA, M. N. (ed.), *Flora patagónica*, Parte I, Tomo I, pp. 282-371. Colección Científica del INTA, Buenos Aires.
- DE LA SOTA, E. R., M. L. LUNA, G. E. GIUDICE & J. P. RAMOS GIACOSA. 2009. Sinopsis de las Pteridofitas de la Provincia de San Luis (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 44: 367-385.
- DICKSON, S. 2004. The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 163: 187-200. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01095.x>
- EDWARDS, D. & U. FANNING. 1985. Evolution and environment in the late Silurian-early Devonian: the rise of the pteridophytes. *Phil. Trans. Royal Soc. London B* 309: 147-165. <https://royalsocietypublishing.org/doi/epdf/10.1098/rstb.1985.0076>
- FERNÁNDEZ, N., M. I. MESSUTI & S. FONTENLA. 2008. Arbuscular mycorrhizas and dark septate fungi in *Lycodium paniculatum* (Lycopodiaceae) and *Equisetum bogotense* (Equisetaceae) in a Valdivian temperate forest of Patagonia, Argentina. *Am. Fern J.* 98: 117-127.
- FERNÁNDEZ, N., S. FONTENLA & M. I. MESSUTI. 2010. Mycorrhizal status of obligate and facultative epiphytic ferns in a Valdivian Temperate Forest of Patagonia, Argentina. *Am. Fern J.* 100: 16-26.
- FERNÁNDEZ, N. V., M. I. MESSUTI & S. B. FONTENLA. 2012a. Occurrence of arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes in pteridophytes from a Patagonian rainforest, Argentina. *J. Basic Microbiol.* 52: 1-11.
- FERNÁNDEZ, N. V., S. B. FONTENLA & M. I. MESSUTI. 2012b. Co-occurrence of arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes in pteridophytes from a Valdivian temperate rainforest in Patagonia, Argentina. En: PAGANO, M. C. (ed.), *Mycorrhiza. Occurrence in natural and restored environments*, pp. 99-125. NOVA Science Publishing Inc., New York.
- FITTER, A. H. 2004. Magnolioid roots-hairs, architecture and mycorrhizal dependency. *New Phytol.* 164: 15-16. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01193.x>
- FONTENLA, S., R. GODOY, P. ROSSO & M. HAVRYLENKO. 1998. Root associations in *Austrocedrus* forests and seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizas. *Mycorrhizas* 8: 29-33
- FONTENLA, S., J. PUNTIERI & J. A. OCAMPO. 2001. Mycorrhizal associations in the Patagonia steppe, Argentina. *Plant Soil* 233:13-29.
- FONTENLA, S. B., N. V. FERNÁNDEZ, M. C. MESTRE & J. P. PUNTIERI. 2022. Current knowledge on mycorrhizal symbiosis and endophytes in Northwest Patagonia, Argentina. En: LUGO, M. A. & M. C. PAGANO (eds.), *Mycorrhizal Fungi in South America: Biodiversity, Conservation, and Sustainable Food Production*, pp. 255-280. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-12994-0>
- FRACCHIA, S., A. ARANDA, A. GOPAR, V. SILVANI, L. FERNANDEZ & A. GODEAS. 2009. Mycorrhizal status of plant species in the Chaco Serrano Woodland from central Argentina. *Mycorrhiza* 19: 205-214.
- GEMMA, J. N., R. E. KOSKE & T. FLYNN. 1992. Mycorrhizae in Hawaiian pteridophytes: occurrence and evolutionary significance. *Am. J. Bot.* 79: 843-852.
- GODOY, R. & C. MARÍN. 2019. Mycorrhizal studies in temperate rainforests of Southern Chile. En: PAGANO, M. C. & M. A. LUGO (eds.), *Mycorrhizal fungi in South America*, pp. 315-341. Springer, Cham.

- GUCWA-PRZEPIÓRA, E., D. CHMURA & K. SOKOŁOWSKA. 2016. AM and DSE colonization of invasive plants in urban habitat: a study of Upper Silesia (southern Poland). *J. Plant Res.* 129: 603-614. <https://doi.org/10.1007/s10265-016-0802-7>
- HERNÁNDEZ, M., P. L. ALBORNOZ, F. RODRÍGUEZ & S. SERRANO. 2008. Anatomía de rizoma, raíz y micorrizas arbusculares en *Cheilanthes pruinata* Kaulf. y *Cheilanthes myriophylla* Desv. (Pteridaceae) en el Noroeste Argentino. *Lilloa* 45: 73-82.
- HERNÁNDEZ, M., G. TERÁN & P. L. ALBORNOZ. 2010. Morfología, anatomía y endomicorrizas en el esporofito de *Doryopteris concolor* (Pteridaceae). *Lilloa* 47: 74-84.
- HODGE, A., T. HELGASON & A. H. FITTER. 2010. Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecol.* 10: 267-273. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2010.02.002>
- HODSON, E., F. SHAHID, J. BASINGER & S. KAMINSKYJ. 2009. Fungal endorhizal associates of *Equisetum* species from Western and Arctic Canada. *Mycol. Progress* 8: 19-27.
- JANOS, D. P. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12: 56-64.
- JANOS, D. P. 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of epiphytes. *Mycorrhiza* 4: 1-4. <https://doi.org/10.1007/BF00203242>
- JANOS, D. P. 2007. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza* 17: 75-91.
- JUMPPONEN, A. & J. M. TRAPPE. 1998. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytol.* 140: 295-310.
- KENRICK, P. 2017a. Changing expressions: a hypothesis for the origin of the vascular plant life cycle. *Phil. Trans. R. Soc. B* 373: 20170149. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2017.0149>
- KENRICK, P. 2017b. How land plant life cycles first evolved. *Science* 358: 1538-1539. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aan2923>
- KESSLER, M., R. JONAS, D. CICUZZA, J. KLUGE, ..., & M. LEHNERT. 2010. A survey of the mycorrhization of Southeast Asian ferns and lycophytes. *Plant Biol.* 12: 788-793.
- KHOLIA, B. S. & A. BALKRISHNA. 2022. Pteridophytes used by peoples of Indian Himalayan Region and Northern India: An overview. En: MARIMUTHU, J., H. FERNÁNDEZ, A. KUMAR & S. THANGAIAH (eds.), *Ferns*, pp. 379-412. Springer, Singapore.
- KNAPP, D. G., A. PINTYE & G. M. KOVÁCS. 2012. The dark side is not fastidious. Dark septate endophytic fungi of native and invasive plants of semiarid sandy areas. *Plos One* 7: e32570.
- LEHNERT, M., I. KOTTKE, S. SETARO, L. F. PAZMIÑO, J. P. SUÁREZ & M. KESSLER. 2009. Mycorrhizal associations in ferns from Southern Ecuador. *Am. Fern J.* 99: 292-306.
- LEHNERT, M., M. KRUG & M. KESSLER. 2017. A review of symbiotic fungal endophytes in lycophytes and ferns-a global phylogenetic and ecological perspective. *Symbiosis* 71: 77-89.
- LUGO, M. A. & M. N. CABELLO. 2002. Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity. *Mycologia* 94: 579-586.
- LUGO, M. A., M. E. GONZÁLEZ MAZA & M. N. CABELLO. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from native Argentinian -South American-mountain grassland II. Seasonal variation of colonization and its relation with grazing and metabolic host type. *Mycologia* 95: 407-415.
- LUGO, M. A. & E. MENOYO. 2019. Southern Highlands: Fungal endosymbiotic associations. En: PAGANO, M. C. & M. A. LUGO (eds.), *Mycorrhizal Fungi in South America*, pp. 217-255. Springer, Cham.
- LUGO, M. A. & M. C. PAGANO. 2019. Overview of the mycorrhizal fungi in South America. En: PAGANO, M. C. & M. A. LUGO (eds.), *Mycorrhizal Fungi in South America*, pp. 1-27. Springer, Cham.
- LUGO, M. A. & M. C. PAGANO. 2022. Overview of the biodiversity, conservation, and sustainable food production with mycorrhizal fungi in South America. En: LUGO, M. A. & M. C. PAGANO (eds.), *Mycorrhizal Fungi in South America: Biodiversity, Conservation, and Sustainable Food Production*, pp. 1-23. Springer, Cham.
- LUJÁN, M. C., G. E. BARBOZA, S. WELER DE SERRA & L. ARIZA ESPINAR. 2000. Quality control in two medicinal ferns and its local market insertion. *Stud. Bot.* 19: 75-94.
- MANDYAM, K. & A. JUMPPONEN. 2005. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies Mycol.* 53: 173-189.
- MANDYAM, K. & A. JUMPPONEN. 2015. Mutualism parasitism paradigm synthesized from results of root-endophyte models. *Front. Microbiol.* 5: 1-13.
- MARIMUTHU, J., N. JANAKIRAMAN, J. CHANDRA SALERIDE, A. SIVARAMAN, ... & K. PAULRAJ. 2022. Biopotency of Pteridophytes: A review. En:

- MARIMUTHU, J., H. FERNÁNDEZ, A. KUMAR & S. THANGAIAH (eds.), *Ferns*, pp. 481-520. Springer, Singapore.
- MARÍN, C., R. GODOY & J. RUBIO. 2022. Gaps in South American mycorrhizal biodiversity and ecosystem function research. En: LUGO, M. A. & M.C. PAGANO (eds.), *Mycorrhizal Fungi in South America: Biodiversity, Conservation, and Sustainable Food Production*, pp. 445-461. Springer, Cham.
- MARTÍNEZ, A. E., V. CHIOCCHIO, L. TAI EM, M. A. RODRIGUEZ & A. M. GODEAS. 2012. Mycorrhizal association in gametophytes and sporophytes of the fern *Pteris vittata* L. (Pteridaceae) with *Glomus intraradices*. *Rev. Biol. Trop.* 60: 857-865.
- McGONIGLE, T. P., S. M. H. MILLERS, D. G. EVANS, G. L. FAIRCHILD & J. A. SWAN. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.
- MEHLTRETER, K. 2010a. Fern conservation. En: MEHLTRETER K., L. R. WALKER & J. M. SHARPE (eds.), *Fern ecology*, pp. 323-359. Cambridge University Press, Cambridge.
- MEHLTRETER, K. 2010b. Interactions of ferns with fungi and animals. En: MEHLTRETER K., L. R. WALKER & J. M. SHARPE (eds.), *Fern ecology*, pp. 220-254. Cambridge University Press, Cambridge.
- MENOYO, E., A. BECERRA & D. RENISON. 2007. Mycorrhizal associations in *Polylepis* woodlands of Central Argentina. *Can. J. Bot.* 85: 526-531. <https://doi.org/10.1139/B07-04>
- MOFOKENG, M. M., C. P. DU PLOOY, H. T. ARAYA, S. O. AMOO, S. N. MOKGEHLE, K. M. POFU & P. W. MASHELA. 2022. Medicinal plant cultivation for sustainable use and commercialisation of high-value crops. *S. Afr. J. Sci.* 118: Art. #12190. <https://doi.org/10.17159/sajs.2022/12190>
- MONTOLIU-NERIN, M., M. SÁNCHEZ-GARCÍA, C. BERGIN, C. KUTSCHERA, ..., & A. ROSLING. 2021. In-depth phylogenomic analysis of arbuscular mycorrhizal fungi based on a comprehensive set of de novo genome assemblies. *Front. Fungal Biol.* 2: 716385. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2021.716385>
- MORERO, R. E., M. A. GIORGIS, M. D. ARANA & G. BARBOZA. 2014. *Helechos y licófitas del centro de Argentina, cultivo y especies ornamentales*. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (CONICET-UNC), Córdoba.
- MUTHUKUMAR, T. & S. PRAKASH. 2009. Arbuscular mycorrhizal morphology in crops and associated weeds in tropical agroecosystems. *Mycoscience* 50: 233-239.
- MUTHUKUMAR, T., M. SENTHILKUMAR, M. RAJANGAM & K. UDAIYAN. 2007. Arbuscular mycorrhizal morphology and dark septate fungal associations in medicinal and aromatic plants of Western Ghats, Southern India. *Mycorrhiza* 17: 11-24. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0077-2>
- NAGALINGUM, N. S. 2016. Evolution and diversification of seedless land plants En: KLIMAN, R. D. (ed.), *Encyclopedia of Evolutionary Biology*, vol. 4, pp. 16-21. Elsevier, Amsterdam. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800049-6.00255-9>
- NEWSHAM, K. K. 2011. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. *New Phytol.* 190: 783-793.
- NITTA, J. H., E. SCHUETTPELZ, S. RAMÍREZ-BARAHONA & W. IWASAKI. 2022. An open and continuously updated fern tree of life. *Front. Plant. Sci.* 24: 909768. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.909768>
- OMAR, M. B., L. BOLLAND & W. A. HEATHER. 1979. P.V.A. (polivinil alcohol). A permanent mounting medium for fungi. *Bull. Brit. Mycol. Soc.* 13: 31-32.
- PAGANO, M. C. & M. N. CABELLO. 2012. Mycorrhizas in natural and restored riparian zones. En: PAGANO, M. C. (ed.), *Mycorrhiza. Occurrence in natural and restored environments*, pp. 291-316. NOVA Science Publishing Inc., New York.
- PINTO, S. C., G. G. LEITÃO, A. CASTELLAR, D. S. D'ELIA, ..., & S. G. LEITÃO. 2013. Chemical composition of the volatile fractions from wild and in vitro plants of *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia* (Pteridophyta). *J. Ess. Oil Res.* 25:3: 198-202. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.755477>
- POLANCO, M. & M. A. LUGO. 2005. Micorrizas arbusculares en plantas medicinales de la Reserva Provincial Floro-Faunística La Florida (San Luis, Argentina). Encuentro de Jóvenes Investigadores de Investigadores de las Universidades Nacionales. En: *Libro de resúmenes Jóvenes Investigadores*, pp. 114. Universidad Nacional de San Luis, San Luis.
- PORWAL, O., S. K. SINGH, D. K. PATEL, S. GUPTA, ... & S. KATEKHAYE. 2020. Cultivation, collection and processing of medicinal plants. En: AHMAD, J. (ed.), *Bioactive phytochemicals: drug discovery to product development*, pp. 14-30. Bentham Science Publishers, Sharjah.
- PRESSEL, S., M. I. BIDARTONDO, K. J. FIEL, W. R. RIMINGTON & J. G. DUCKETT. 2016. Pteridophyte

- fungal associations: Current knowledge and future perspectives. *J. Syst. Evol.* 54: 666-678.
- PHILLIPS, J. M. & D. S. HAYMAN. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- ROIG, F. A. 2002. *Flora medicinal mendocina. Las plantas medicinales y aromáticas de la provincia de Mendoza (Argentina)*. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza.
- SANTOS, M. G., L. M. ROCHA, E. S. CARVALHO & A. KELECOM. 2006. Isoafricanol, um sesquiterpeno incomum encontrado na pteridófito *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*. *Rev. Bras. Plant. Med.* 8: 71-75.
- SCHUETTPELZ, E. & K. M. PRYER. 2009. Evidence for a Cenozoic radiation of ferns in an angiosperm-dominated canopy. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 106: 11200-11205. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811136106>
- SCHUETTPELZ, E., H. SCHNEIDER, A. R. SMITH, P. HOVENKAMP, ..., & X.-M. ZHOU. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *PPG I. J. Syst. Evol.* 54: 563-603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- SCHULZ, B. 2006. Mutualistic interactions with fungal root endophytes. En: SCHULZ, B. J. E., C. J. C. BOYLE & T. N. SIEBER (eds.), *Microbial root endophytes*, pp. 261-279. Springer, Berlin.
- SHAH, M. A., Z. A. RESHI & D. P. KHASA. 2009. Arbuscular mycorrhizas: drivers or passengers of alien plant invasion. *Bot. Rev.* 75: 397-417.
- SHARPE, J. M., K. MEHLTRETER & L. R. WALKER. 2010. Ecological importance of ferns. En: MEHLTRETER, K., L. R. WALKER & J. M. SHARPE (eds.), *Fern ecology*, pp. 1-21. Cambridge University Press, Cambridge.
- SMITH, S. E. & D. J. READ. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd Ed. Academic Press, London.
- SMITH, F. A. & S. E. SMITH. 1997. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 137: 373-388.
- URCELAY, C., P. A. TECCO & F. CHIARINI. 2005. Micorrizas arbusculares del tipo Arum y Paris y endófitos radicales septados oscuros en *Miconia ioneura* y *Tibouchina paratropica* (Melastomataceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 40: 151-155.
- VELÁZQUEZ, M. S., F. BIGANZOLI & M. N. CABELLO. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi in El Palmar National Park (Entre Rios Province, Argentina)-a protected reserve. *Sydowia* 62: 149-163.
- WANG, B. & Y. L. QIU. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299-363.
- WANG, W., J. SHI, Q. XIE, Y. JIANG, ... & E. WANG. 2017. Nutrient exchange and regulation in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mol. Plant.* 10: 1147-1158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2017.07.012>
- WANG, C. C., H. CAI, H. ZHAO, Y. YAN, ..., & X. LIU. 2018. Distribution patterns for metabolites in medicinal parts of wild and cultivated licorice. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 161: 464-473. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.004>
- WIJAYAWARDENE, N. N., K. D. HYDE, D. Q. DAI, M. SÁNCHEZ-GARCÍA, ..., & M. THINES. 2022. Outline of fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere* 13: 53-453.
- YAMATO, M. & M. IWASAKI M. 2002. Morphological types of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of understory plants in Japanese deciduous broadleaved forests. *Mycorrhiza* 12: 291-296.
- YAMOTO, M. 2004. Morphological types of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of weeds on vacant land. *Mycorrhiza* 14: 127-131. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0246-5>
- YUAN, M.-L., M.-H. ZHANG, Z.-Y. SHI, S. YANG, ..., & J.-K. GAO. 2023. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance active ingredients of medicinal plants: a quantitative analysis. *Front. Plant Sci.* 14: 1276918. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1276918>
- ZENG, Y., L. P. GUO, B. D. CHEN, Z. P. HAO, ..., & Y. ZHANG. 2013. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and active ingredients of medicinal plants: current research status and prospectives. *Mycorrhiza* 23: 253-265. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0484-0>
- ZHANG, Y., L. D. GUO & R. J. LIU. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with common pteridophytes in Dujiangyan, southwest China. *Mycorrhiza* 14: 25-30.
- ZHANG, M., Z. SHI, S. ZHANG & J. GAO. 2022. A Database on mycorrhizal traits of Chinese medicinal plants. *Front. Plant Sci.* 13: 840343. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.840343>
- ZHAO, Y., A. CARTABIA, I. LALAYMIA & S. DECLERCK. 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi and production of secondary metabolites in medicinal plants. *Mycorrhiza* 32: 221-256. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.840343>

- ZHOU, X.-M., J.-J. YANG, Z.-L. LIANG, R. POLLAWATN, ..., & L.-B. ZHANG. 2023. A global phylogeny of grammitid ferns (Polypodiaceae) and its systematic implications. *Taxon* 72: 974-1018. <https://doi.org/10.1002/tax.12992>
- ZUBEK, S. & J. BLASZKOWSKI. 2009. Medicinal plants as hosts of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes. *Phytochem. Rev.* 8: 571-580. <https://doi.org/10.1007/s11101-009-9135-7>



SELAGINELLA PECTOPUELLENSIS (SELAGINELLACEAE, LYCOPODIOPHYTA): A NEW SPECIES FROM SERRA DO PEITO-DE-MOÇA, BAHIA, BRAZIL, WITH COMMENTS ON THE TAXONOMY OF THE SPECIES REPORTED IN THE COUNTRY

SELAGINELLA PECTOPUELLENSIS (SELAGINELLACEAE, LYCOPODIOPHYTA): UNA NUEVA ESPECIE DE LA SERRA DO PEITO-DE-MOÇA, BAHÍA, BRASIL CON COMENTARIOS SOBRE LA TAXONOMÍA DE LAS ESPECIES REPORTADAS EN EL PAÍS

Iván A. Valdespino^{1,2,3*}, Christian A. López⁴, Jorge I. Ceballos³ & José M. Palacios^{1,3}

1. Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Universidad de Panamá, Panamá
2. Sistema Nacional de Investigación (SNI), SENACYT, Panamá
3. Smithsonian Tropical Research Institute, Panamá, Panamá
4. Department of Integrative Biology, University of Texas at Austin, Austin, USA

*iavaldespino@gmail.com

Citar este artículo

VALDESPINO, I. A., C. A. LÓPEZ, J. I. CEBALLOS & J. M. PALACIOS. 2024. *Selaginella pectopuellensis* (Selaginellaceae, Lycopodiophyta): a new species from Serra do Peito-de-Moça, Bahia, Brazil, with comments on the taxonomy of the species reported in the country. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 393-403.

DOI: <https://doi.org/110.31055/1851.2372.v59.n3.44549>

Recibido: 15 Abr 2024
Aceptado: 4 Jul 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editora: Olga G. Martínez 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: Our research on neotropical *Selaginella* led us to examine a collection from the Atlantic Forest of Serra do Peito-de-Moça, Bahia, Brazil, initially determined as *S. muscosa* but with unusual features, indicating it represented an undescribed species. We also reexamined the taxonomic and nomenclatural status of three *Selaginella* taxa previously described from Brazil and gathered information on introduced and naturalized species in the country.

M&M: Morphological analysis used stereomicroscopes and scanning electron microscopy to distinguish the suspected new species from its morphologically nearest ally.

Results: We confirmed that the plant material from the Atlantic Forest of Serra do Peito-de-Moça, Bahia, Brazil, is a new species that we named *Selaginella pectopuellensis* (Selaginellaceae). Additionally, we clarified the taxonomic and nomenclatural status of three *Selaginella* species previously described from Brazil and provided more information on naturalized taxa. Overall, we expanded the confirmed number of native Brazilian *Selaginella* species to 91 and confirmed six introduced and naturalized taxa in the country.

Conclusions: The description of *S. pectopuellensis* adds to our knowledge of Brazil's pteridophyte flora. We synonymized *S. kriegeriana* under *S. magnaformensis* and clarified that *S. bahiensis* subsp. *bahiensis* and *S. bahiensis* subsp. *manausensis* should not be recognized as separate taxa. We also confirmed six naturalized *Selaginella* taxa in Brazil.

KEY WORDS

Atlantic Forest, endemism, idioblasts, lycophytes, papillae.

RESUMEN

Introducción y objetivos: Nuestra investigación sobre *Selaginella* neotropical nos llevó a examinar una colección del Bosque Atlántico de Serra do Peito-de-Moça, Bahía, Brasil, inicialmente identificada como *S. muscosa*, pero con características inusuales que indicaban que representaba una especie no descrita. Además, reexaminamos la taxonomía y nomenclatura de tres taxones de *Selaginella* previamente descritos en Brasil e información sobre especies introducidas y naturalizadas en el país.

M&M: Se realizó un análisis morfológico utilizando estereomicroscopios y microscopía electrónica de barrido para distinguir la supuesta nueva especie de su aliada morfológicamente más cercana.

Resultados: Confirmamos que el material vegetal del Bosque Atlántico de Serra do Peito-de-Moça, Bahía, Brasil, es una nueva especie y la nombramos *Selaginella pectopuellensis* (Selaginellaceae). Además, clarificamos el estado taxonómico y nomenclatural de tres especies de *Selaginella* previamente descritas para Brasil y adicionamos información sobre taxones naturalizados. En general, ampliamos el número confirmado de especies nativas de *Selaginella* en Brasil a 91 y confirmamos la ocurrencia de seis taxones introducidos y naturalizados en el país.

Conclusiones: La descripción de *S. pectopuellensis* amplía nuestro conocimiento de la flora de pteridofitas de Brasil. Sinonimizamos *S. kriegeriana* bajo *S. magnaformensis* y aclaramos que *S. bahiensis* subsp. *bahiensis* y *S. bahiensis* subsp. *manausensis* no deben reconocerse como taxones separados. Igualmente, confirmamos seis taxones de *Selaginella* naturalizados en Brasil.

PALABRAS CLAVE

Bosque Atlántico, endemismo, idioblastos, licófitas, papilas.

INTRODUCTION

The Selaginellaceae of Brazil are highly diverse and species-rich (Valdespino, 2015a; Valdespino *et al.*, 2018a, b; Flora e Funga do Brasil, 2020). Alston *et al.* (1981) listed 45 native *Selaginella* species, including two subspecies for Brazil, while Valdespino (2018a, b) estimated 89–96 native species to occur in that country. Flora e Funga do Brasil (2020) indicates a total of 97 *Selaginella* species and one subspecies as occurring within Brazil, as stated in the document's summary. This number, however, is somewhat unclear since some of the listed taxa are introduced; one is a synonym of a previously described taxon, and the listed subspecies do not have taxonomic standing. Specifically, *S. kraussiana* (Kunze) A. Braun, *S. pallescens* (C. Presl) Spring, *S. plana* (Desv.) Hieron., *S. viticulosa* Klotzsch, *S. vogelii* Spring, and *S. willdenowii* (Desv.) Baker are non-native, but introduced and naturalized taxa. Likewise, *S. viticulosa* is known to naturally occur only in Costa Rica and Panama, while it has perhaps been introduced to Jamaica and Bermuda in the West Indies, and in Colombia, Venezuela, as well as in the island of Trinidad in Trinidad and Tobago (Baksh-Comeau, 2000) in South America. Specimens documenting *S. viticulosa* in Brazil, e.g., material collected in and around neighborhoods of Rio de Janeiro (i.e., Brade 16105, RB barcode RB00702089-image!; Brade s.n., RB barcode RB00691682-image!), the Botanical Garden of Rio de Janeiro (i.e., Nascimento 7, RB barcode RB01417493; Oliveira 02, RB barcode RB00316275; Simões 76, RB barcode RB00316244, 87, RB barcode RB00316245; Winter 68, RB barcode RB00533100-image!, 69, RB barcode RB00316191, 73, RB barcode RB00316187, 102, RB barcode RB00316116 – all RB images!), and the Parque Nacional da Tijuca (i.e., Mynseen 1365, RB barcode RB00726501-image!), originate from well-known areas with introduced, cultivated or naturalized flora. Additionally, *S. bahiensis* Spring subsp. *manausensis* (Bautista) Jermy & J.M. Rankin (\equiv *S. manausensis* Bautista) is conspecific with and a later heterotypic synonym of *S. palmiformis* Alston ex Crabbe & Jermy, therefore *S. bahiensis* subsp. *bahiensis* is a homotypic synonym of *S. bahiensis* (Valdespino *et al.*, 2015) and should not be listed as an independent taxon. Furthermore,

our analysis of the protologue, including SEM images, of *S. kriegeeriana* L.A. Goés, listed in Flora e Funga do Brasil (2020) as a native species, leads us to consider it conspecific with *S. magnaforensis* Valdespino & C. López, which has nomenclatural precedence. In consequence, only 90 *Selaginella* species are well-documented as native to Brazil, while six are introduced and somewhat naturalized (i.e., *S. kraussiana*, *S. pallescens*, *S. plana*, *S. viticulosa*, *S. vogelii*, and *S. willdenowii*), and another (i.e., *S. kriegeeriana*) is a recent synonym of a previously described taxon. These data serve to illustrate that our overall knowledge of *Selaginella* diversity in Brazil and, for that matter, in other South American countries such as Colombia, Venezuela, Ecuador, Peru, and Bolivia, is still far from complete (Smith & Kessler, 2018; Valdespino *et al.*, 2018a, b). Indeed, as anticipated by Valdespino *et al.* (2018a), new and undescribed species are still to be uncovered in these countries. In the case of Brazil, without a doubt, the country is proving to be a *Selaginella* treasure trove, and within it, the Bahia State has yielded recent significant findings (Valdespino 2015a, b; Valdespino *et al.*, 2015).

The state of Bahia includes an extensive territory with diverse ecosystems, among which the Atlantic Forest (Mata Atlântica) along its eastern part is a biodiversity hotspot due to the high number of endemic and threatened plant species found there (Myers *et al.*, 2000; Giulietti *et al.*, 2006; Matos *et al.*, 2010; Ostroski *et al.*, 2018; Flora e Funga do Brasil, 2020). Furthermore, Bahia is the sixth state with the highest number of lycophytes and ferns in Brazil. It harbors 18 known *Selaginella* species, which makes it the seventh in that country in terms of the number of taxa in that genus (Flora e Funga do Brasil, 2020), including four endemic *Selaginella*: *S. bahiensis* Spring (Spring, 1840), and the recently described *S. blepharodella* Valdespino, *S. crinita* Valdespino, and *S. mucugensis* Valdespino (Valdespino *et al.*, 2015). In this study, we further describe *Selaginella pectopuellensis* Valdespino & C. López as an additional new and endemic species from the Bahia State, Brazil.

MATERIALS AND METHODS

One gathering of *Selaginella pectopuellensis* was initially examined at the Herbarium of the New York

Botanical Garden (NY) using a stereomicroscope (i.e., Olympus SZ 60-ST5). Further examination of loaned material was undertaken at the University of Panama herbarium (PMA) using an Olympus SZX16 to better ascertain leaf and spore characters. Air-dried samples of stem sections, leaves, and spores were sputter coated with gold-palladium and examined with a Zeiss Model Evo 40vp Scanning Electron Microscope (SEM) at 10–15 kV at the Smithsonian Tropical Research Institute (STRI). Digitized SEM images of plant sections, leaves, and spores were taken at different magnifications, post-processed, and assembled in multipart figures using Adobe Photoshop, as explained in Valdespino (2016). Terminology and measurements used in species descriptions follow Valdespino (2019) and Valdespino & López (2019), while conservation status was determined according to the IUCN Standards and Petitions Committee (2022).

RESULTS

Selaginella pectopuellensis Valdespino & C. López, sp. nov. TYPE: BRAZIL. Bahia, Arataca, Serra do Peito-de-Moça, road joining Arataca to Una, ca. 22.4 km from Arataca, entrance to Sto. Antônio settlement, RPPN Caminho das Pedras, 15°10'25"S, 39°20'30"W, 1000 m, 13-IV-2007, F. B. Matos, S. Vieira, M. Lopes, S. Sant'Ana & L. C. Gomes 1360 (*Holotype*, NY barcode NY1686456!; *isotypes*, CEPEC-n.v., PMA!, UPCB barcode UPCB0010917-image!). Figs. 1-5.

Diagnosis. *Selaginella pectopuellensis* differs from *S. muscosa* Spring by its coriaceous (vs. chartaceous) leaves that lack elongate idioblasts on upper and lower surfaces or few scattered along acroscopic halves of lateral leaves (vs. idioblasts present on both leaf surfaces or only visible on leaf lower surfaces), broadly-ovate to ovate-orbicular (vs. ovate-lanceolate) median leaves long-ciliate throughout (vs. short-ciliate along proximal $\frac{3}{4}$, otherwise serrate to serrulate along distal $\frac{1}{4}$) margins, each cilium 0.15 or 0.2 (0.1 or less) mm long, and long-aristate apices with each arista covered by stiff, short, permanent tooth-like hair (vs. arista lacking stiff tooth-like hairs or this inconspicuous, delicate, and easily abraded) on upper surfaces.

Description. Plants terrestrial. Stems long-creeping, stramineous, 8–12 cm long, 0.8–1.0 mm diam., non-articulate, not flagelliform, non-stoloniferous, sparsely 2- or 3-branched. Rhizophores ventral, stout, borne throughout proximal $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$ of stems, 0.2–0.5 mm diam. Leaves heteromorphic throughout, coriaceous, upper surfaces green or greenish-brown when old or due to fixing and drying processes, lower surfaces silvery green or light-brown when old or due to sample processing. Lateral leaves distant, ascending to slightly perpendicular to stems or slightly imbricate along distal portion of stem and branches, ovate, ovate-cordate to cordate, 1.8–2.5 × 1.0–1.5 mm; bases subcordate, glabrous, acroscopic bases overlapping stems, basiscopic bases free from stems; acroscopic margins on both surfaces continuously bordered by a hyaline band comprised of idioblasts, the band 3–7 cell wide, each idioblast elongate, straight-walled, and papillate, the papillae in one or two rows over each cell lumen and submarginally on upper surfaces bordered by a broad band of 5–10 round, sinuate-walled, and papillate cells along distal $\frac{1}{2}$, the papillae 5–22 on each cell lumen, basiscopic margins on upper surfaces continuously bordered by a hyaline band comprised of idioblasts, the band 1–3 cell wide, each idioblasts similar to those on acroscopic margins on upper surfaces and submarginally, continuously bordered by a band of cells similar to that found submarginally, along distal $\frac{1}{2}$ of acroscopic margins on upper surfaces, the basiscopic margins on lower surfaces, bordered by a band of papillate idioblasts, the band 2–6 cell wide, each idioblast as those in acroscopic margins and both the acroscopic and the basiscopic submarginal portion of laminae in lower surfaces without a band of rounded, sinuate-walled, and papillate cells, acroscopic margins long-ciliate along proximal $\frac{2}{3}$, otherwise short-ciliate to dentate distally, each cilium, stiff and 0.05–0.15 mm long, basiscopic margins sparsely short-ciliate to dentate throughout; apices short-acuminate, each acumen 0.05–0.2 mm long, each tipped by 1–3, short, tooth-like hairs; upper surfaces glabrous, comprising rounded, irregularly, sinuate-walled, laevigate cells, without idioblasts or stomata; lower surfaces comprising elongate, sinuate-walled cells, with few elongate and papillate idioblasts sparsely distributed along acroscopic halves of the laminae and abundantly distributed on proximal portion near the



Fig. 1. *Selaginella pectopuellensis* Valdespino & C. López. Scanned image of holotype: Matos et al. 1360 (NY). Digitized image courtesy of the herbarium of the University of Panama, Panama.

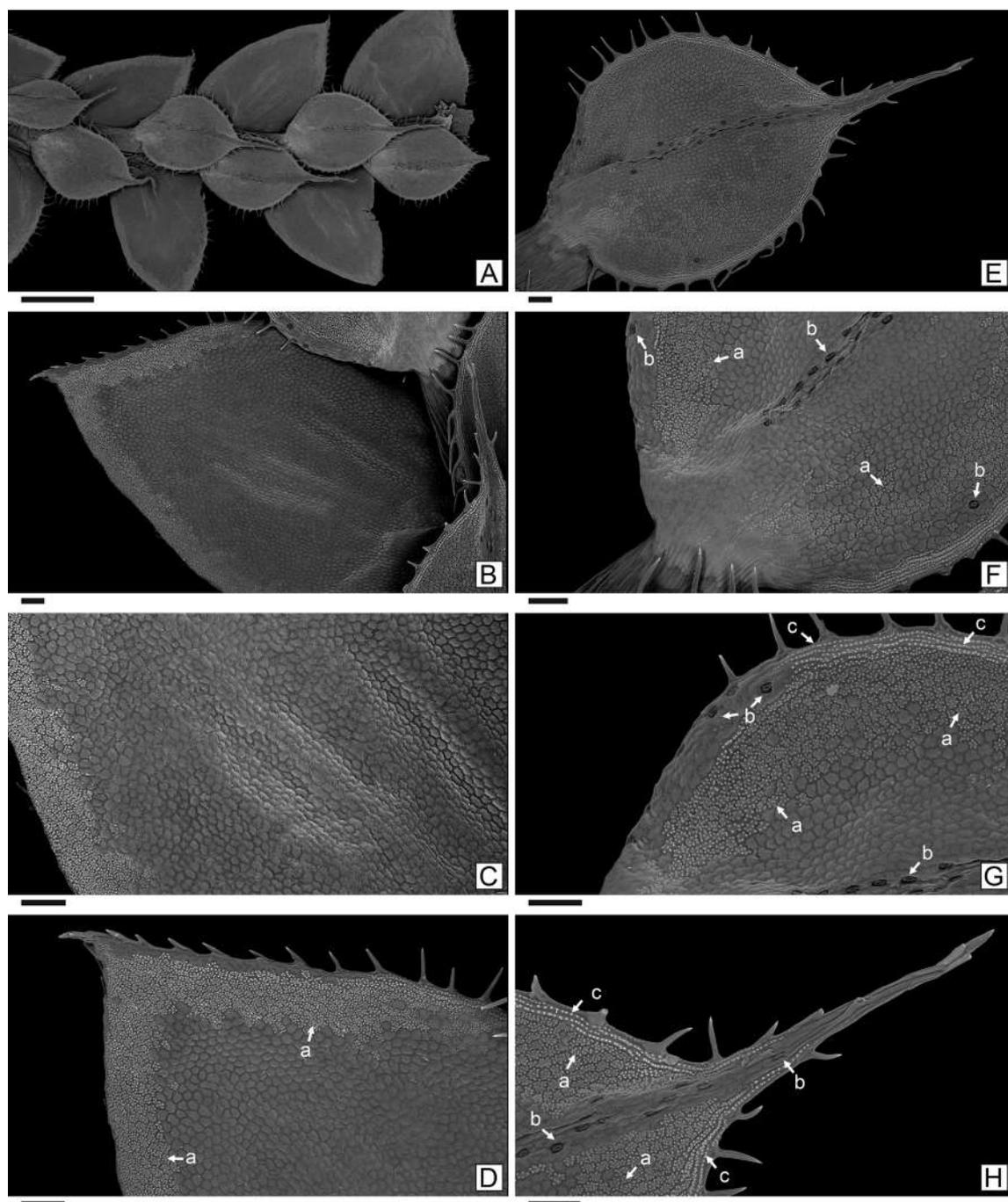


Fig. 2. *Selaginella pectopuellensis* Valdespino & C. López. **A:** Stem, upper surface. **B:** Lateral leaf, upper surface. **C:** Close-up of lateral leaf proximal section, upper surface. **D:** Close-up of lateral leaf distal section, upper surface. **E:** Median leaf, upper surface. **F:** Close-up of median leaf proximal section, inner half, upper surface. **G:** Close-up of median leaf proximal section, outer half, upper surface. **H:** Close-up of median leaf, distal section, upper surface. Abbreviations= a: round, papillate cells; b: stomata; c: elongate and papillate idioblasts. Scale bars= A: 1 mm; B–H: 100 μ m. (Matos *et al.* 1360, holotype, NY).

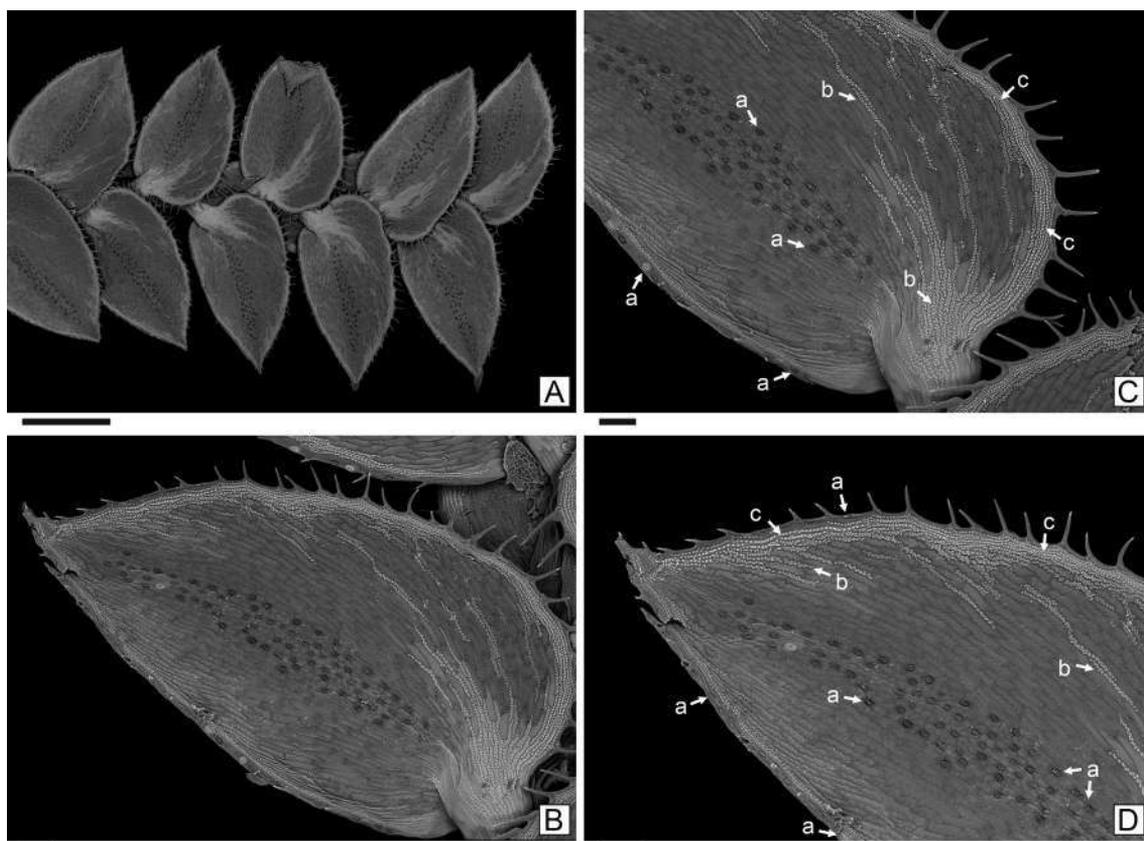


Fig. 3. *Selaginella pectopuellensis* Valdespino & C. López. **A:** Stem, lower surface. **B:** Lateral leaf, lower surface. **C:** Close-up of lateral leaf proximal section, lower surface. **D:** Close-up of lateral leaf distal section, lower surface. Abbreviations= a: stomata; b: elongate and papillate idioblasts on leaf lamina; c: submarginal and marginal, elongate and papillate idioblasts. Scale bars= A: 1 mm; B–D: 100 μ m. (Matos *et al.* 1360, holotype, NY).

bases, each idioblast lumen covered by 1 or 2 rows of papillae, with stomata in 2–5 rows along midribs and on one row along basicopic margins. Median leaves slightly imbricate, ascending, broadly ovate to broadly ovate-elliptic or orbicular with the inner and outer halves equal in width, 1.0–1.6 \times 0.7–1.1 mm; bases glabrous, rounded to oblique on leaf near distal portions of main stems and branches, without auricles; margins continuously bordered by a broadly hyaline band comprised of idioblasts, the band 2–4 cells wide, the idioblasts, elongate, straight-walled, and papillate, the papillae on one or two rows on each cell lumen, long-ciliate throughout or entire along proximal $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{3}$ and long-ciliate along distal $\frac{3}{4}$ – $\frac{2}{3}$; apices keeled, long-aristate, the

arista denticulate along its margins, $\frac{1}{2}$ the length of the laminae, each 0.5–0.8 mm long, usually tipped by 1–3 teeth; upper surfaces composed of medial to submedial laevigate, rounded, sinuate-walled cells and a submedial to submarginal band of rounded, sinuate-walled, and papillate cells similar to those present in submarginal portion of the lateral leaf laminae upper surfaces, without idioblasts, with stomata in 1–3 rows along distal $\frac{3}{4}$ of midribs and one row submarginally on proximal $\frac{1}{4}$ of inner margins and 6 or 7 marginally and submarginally on proximal $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{3}$ of outer margins; lower surfaces similar to lower surfaces of lateral leaves, without idioblasts or stomata. Axillary leaf shape, size, bases, margins (except

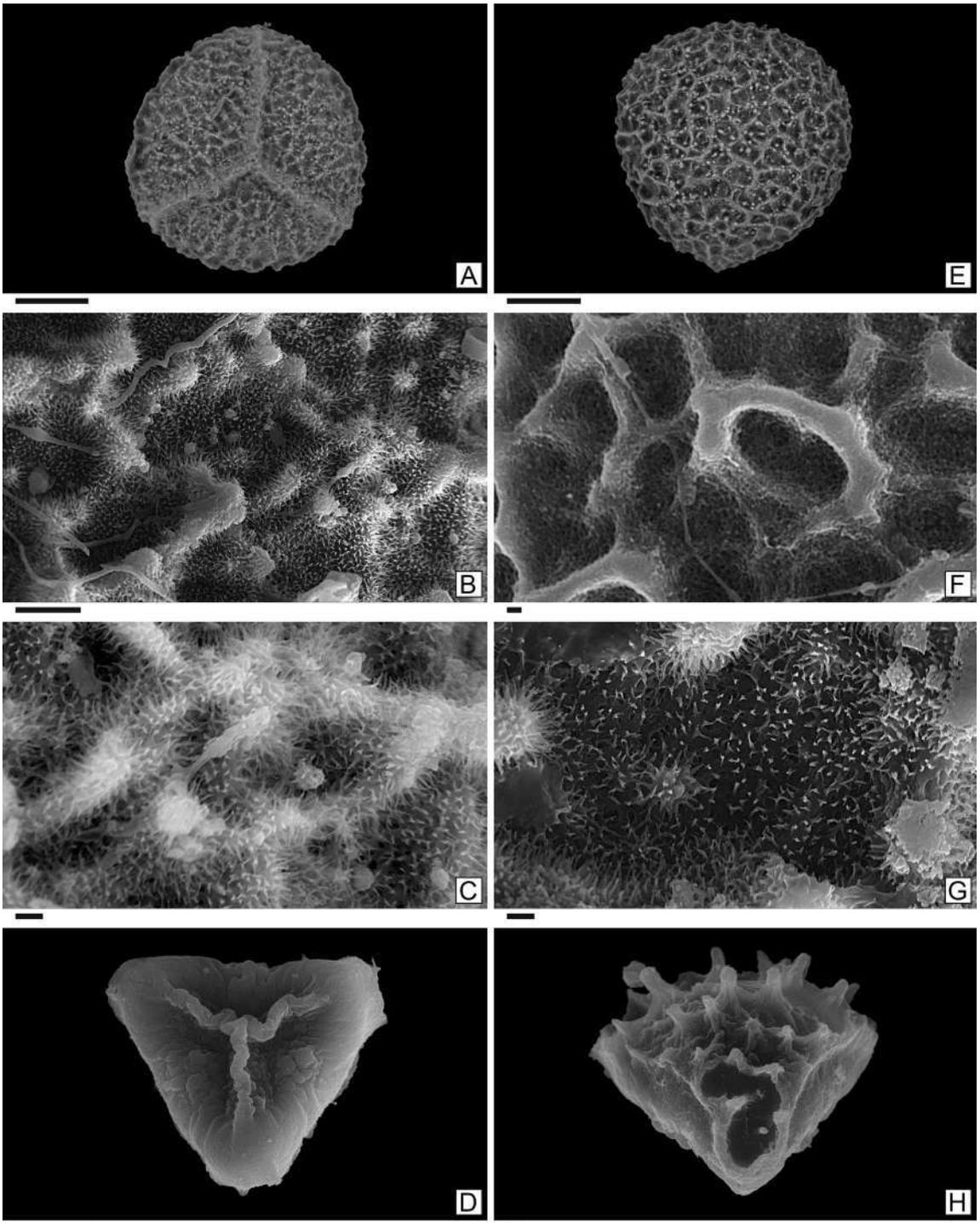


Fig. 4. *Selaginella pectopuellensis* Valdespino & C. López. **A:** Megaspore, proximal face. **B:** Close-up of megaspore, proximal face. **C:** Close-up of megaspore, proximal face. **D:** Microspore, proximal face. **E:** Megaspore, distal face. **F:** Close-up of megaspore, distal face. **G:** Close-up of megaspore, distal face. **H:** Microspore, distal face. Scale bars= A, E: 100 μ m; B, D: 10 μ m; C, F–H: 2 μ m. (Matos *et al.* 1360, holotype, NY).



Fig. 5. Distribution map of *Selaginella pectopuellensis* Valdespino & C. López.

some with both margins as acroscopic margins of lateral leaves), apices, and leaf surfaces similar to lateral leaves. Strobili terminal, single at stem and branch tips, quadrangular to slightly dorsiventrally flattened, 3–10 mm long. Sporophylls slightly heteromorphic and spreading, ovate to ovate-lanceolate, dorsal sporophylls slightly shorter than ventral sporophylls, each with a strongly developed keel along the midrib, the keel puberulent with short teeth or hairs along distal ½, margins hyaline as in median leaves, short-ciliate to dentate throughout, apices long-aristate, aristae 0.3–0.5 mm long, each tipped by 1–4, short tooth-like projections; dorsal sporophylls 1.0–1.2 × 0.6–0.8 mm, upper surfaces green with cells as in median leaves upper surfaces, except for the halves that overlap each ventral sporophyll where the surfaces are hyaline, composed of elongate and sinuate-walled cells, similar to those of median leaves lower surfaces, lower surfaces hyaline, similar to those of the median leaves; ventral sporophylls 1.3–1.5 × 0.6–0.8 mm, upper and lower surfaces greenish-hyaline to hyaline, comprised of elongate, sinuate-walled cells. Megasporangia along two ventral rows; megaspores yellow, 330–410 µm diam., proximal faces reticulate, each reticulum small in diameter and closed, with a slightly developed equatorial flange, the microstructure echinate and perforate, distal faces reticulate, each reticulum wider than

those on proximal faces, closed, the microstructure echinate and perforate; microsporangia on two dorsal rows; microspores orange, 25–40 µm diam., proximal faces rugulate, the microstructure echinate, distal faces rugulate with baculate to capitate projections, the microstructure echinate.

Distribution and habitat. *Selaginella pectopuellensis* grows as a terrestrial plant among shrubby and herbaceous vegetation in montane forests with many epiphytes at 1000 m in Serra do Peito-de-Moça in southeastern Bahia, Brazil.

Etymology. The specific epithet is a free, compound word derived from the Latin, *pectus* “breast” and *puella* “maiden,” which together refer to the Portuguese name of the mountain range “Serra do Peito-de-Moça,” where this novel species occurs.

Conservation status. *Selaginella pectopuellensis* is only known from a single collection made in the Private Natural Heritage Reserve (i.e., RPPN Caminho das Pedras, Bahia). The Reserve is adjacent to and forms part of the inclusive Parque Nacional da Serra das Lontras in the Atlantic Forest (Mata Atlântica) of Brazil, which comprises significant remnants of mountain forest in the South of Bahia harboring a rich plant diversity that is highly endangered (Amorim & Matos, 2009). Based on IUCN criteria (IUCN Standards and Petitions Committee, 2022), the extent of occurrence (EOO= 0.000 km²) and the area of occupancy (AOO= 4.000 km²) suggest this species is critically endangered (CR). According to Araujo *et al.* (2009) this region severely suffers from deforestation and habitat fragmentation. This is confirmed by more recent vegetation loss analysis (Guedes *et al.*, 2021) and vegetation images (Google, 2024).

DISCUSSION

Selaginella pectopuellensis is notable by its long-creeping stems, which are sparsely 2- or 3-branched, ventral, stout rhizophores, each borne throughout proximal ⅓–½ of stems, coriaceous leaves (Fig. 1), imbricate and ascending median leaves, each broadly ovate to broadly ovate-elliptic or orbicular with the inner and outer halves equal in width and margins continuously bordered by a broadly hyaline band of

idioblasts, the band 2–4 cells wide, the idioblasts, elongate, straight-walled, and papillate, the papillae on one row on each cell lumen (Figs. 2A, E). In addition, the median leaf of *S. pectopuellensis* is long-ciliate throughout margins or entire along proximal $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{3}$ and long-ciliate along distal $\frac{3}{4}$ – $\frac{2}{3}$ of margins and has keeled, long-aristate apices, with aristae denticulate along margins, each arista $\frac{1}{2}$ the length of the laminae, 0.5–0.8 mm long, and usually tipped by one to three teeth (Figs. 2E–H). *Selaginella pectopuellensis* is unique by its lateral leaf upper surfaces having a distinct submedial to submarginal band of round, sinuate-walled, and papillate cells along distal $\frac{1}{2}$ on acroscopic halves of the laminae, which is also present along the laminae length on basispic halves of the laminae (Figs. 2B–D).

The type collection of *S. pectopuellensis* was initially determined as *S. muscosa*, which shows some degree of variability throughout its distribution range (Valdespino, 1995). Certainly, *S. pectopuellensis* and the latter species show certain morphological similarities, including broadly-ovate, long-aristate median leaves with hyaline margins. In addition, both species have yellow megaspores on two ventral rows of sporophylls and orange microspores on two dorsal rows of sporophylls, although *S. muscosa* might also have white megaspores. Nevertheless, *S. pectopuellensis* is easily distinguished from *S. muscosa* by the characters contrasted in the diagnosis. *Selaginella pectopuellensis* is also easily separated from the latter by its lateral leaf upper surfaces having (vs. lacking) a distinct submedial to submarginal band of round, sinuate-walled, and papillate cells along distal $\frac{1}{2}$ on acroscopic halves of the laminae, which is also present along the laminae length on basispic halves of the laminae. It is further distinct from *S. muscosa* by its lateral leaf acroscopic margins long-ciliate throughout (vs. serrate or shortly ciliate along basal $\frac{1}{4}$ and serrulate distally), each cilium stiff and 0.1 or 0.2 mm (vs. each cilium, when present, 0.5 mm) in length, with long-acuminate (vs. acute to short-acuminate) apices, each 0.1 (vs. less than 0.1) mm long.

CONCLUSIONS

This study emphasizes the rich biodiversity found in Brazil's Atlantic Forest and the importance of continued research in this area. It also highlights

the vulnerability of these species and the need for conservation efforts. The documentation of a new species like *Selaginella pectopuellensis* is significant for understanding the ecological complexity of these regions and the evolutionary relationships within the genus *Selaginella*. In this work, we recognize 91 native *Selaginella* species and 6 introduced and naturalized taxa in Brazil, while proposing *S. kriegeriana* as a conspecific with and a synonym of *S. magnaformensis*.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

IAV: conceptualization (lead); data curation (lead); formal analysis (lead); funding acquisition (lead); investigation (lead); methodology (lead); project administration (lead); resources (lead); supervision (lead); validation (lead); visualization (lead); writing – original draft (lead); writing – review and editing (lead). CAL: data curation (equal); formal analysis (equal); investigation (supporting); methodology (supporting); writing – review and editing (equal). JIC: data curation (supporting); formal analysis (supporting); methodology (supporting); resources (supporting); visualization (supporting); writing – review and editing (supporting). JMP: data curation (supporting); formal analysis (supporting); investigation (supporting); resources (supporting); software (supporting); visualization (equal); writing – review and editing (supporting).

ACKNOWLEDGMENTS

We are thankful to Dr. Robbin Moran, Curator Emeritus of ferns and lycophytes at the New York Botanical Garden Herbarium (NY), for allowing the study of the holotype, arranging its loan, and use of fragment material for further study at the herbarium of the University of Panama (PMA). We are grateful to Dra. María de Stapf and Vielka Murillo, both at PMA, for respectively, procuring specimen loans and digitizing the holotype. The Smithsonian Tropical Research Institute (STRI) has also supported this research by allowing the use of scanning electron microscopy facilities. IAV is further indebted to the Dean of the Faculty of Natural and Exact Sciences and Technology

and the office of the Vice Chancellor for Research and Graduate Programs of the University of Panama, and the National Research System (SNI, for its initials in Spanish) of the National Secretariat for Science, Technology, and Innovation (SENACYT) of Panama for supporting his research on *Selaginella*. CAL thanks Dr. Brian E. Sedio for his constant support and advice. We also appreciate the support provided by Pedro Argudo at NovoArt in preparing composed images and Christopher Gioia and Dr. Robbin Moran for proofreading an early draft of the manuscript. Finally, we are also thankful to the reviewers and the editorial team of the Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica for their suggestions to improve the manuscript and successfully steering the publication process.

BIBLIOGRAPHY

- ALSTON, A. H. G., A. C. JERMY & J. M. RANKIN. 1981. The Genus *Selaginella* in Tropical South America. *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Bot.* 9: 233-330.
- AMORIM, A. M. & F. B. MATOS. 2009. A vegetação do Complexo Serra das Lontras. In: SAVE BRASIL, IESB & BIRDLIFE INTERNATIONAL, Complexo de Serras das Lontras e Una, Bahia: Elementos naturais aspectos de sua conservação, pp. 15-26. SAVE, São Paulo.
- ARAÚJO, M., A. MARQUES, V. FERNANDES & A. BRAGA. 2009. Dinâmica da Cobertura Florestal no Corredor Una-Lontras. In: SAVE BRASIL, IESB & BIRDLIFE INTERNATIONAL, Complexo de Serras das Lontras e Una, Bahia: Elementos naturais aspectos de sua conservação, pp. 39-44. SAVE, São Paulo.
- BAKSH-COMEAU, Y. S. 2000. Checklist of the pteridophytes of Trinidad & Tobago. *Fern Gaz.* 16: 11-122.
- FLORA E FUNGA DO BRASIL. 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available in: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> [Accessed March 13, 2021].
- GIULIETTI, A. M., L. P. QUEIROZ, T. R. S. SILVA, F. FRANÇA, M. L. S. GUEDES & A. M. AMORIM. 2006. Flora da Bahia. *Sitientibus Sér. Ci. Biol.* 6: 169-173.
- GOOGLE. 2024. Imagery © 2021 CNES/Airbus Maxar Technologies, Map data © Google. Available in: <https://www.google.com/maps/place/15°10'25.0%22S+39°20'30.0%22W/>. [Accessed January 5, 2024].
- GUEDES, P., L. F. M. HIROTA & M. ROSA. 2021. Atlas da Mata Atlântica e MapBiomass se complementam no monitoramento do bioma. Fundação SOS Mata Atlântica-Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais and MapBiomass. Available in: <https://www.sosma.org.br/artigos/atlas-da-mata-atlantica-e-mapbiomass-se-complementam-no-monitoramento-do-bioma/>. [Accessed August 17, 2021].
- IUCN STANDARDS AND PETITIONS COMMITTEE. 2022. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 15. Prepared by the Standards and Petitions Committee. Available in: <https://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf>. [Accessed March 11, 2024].
- MATOS, F. B., A. M. AMORIM & P. H. LABIAK. 2010. The ferns and lycophytes of a montane tropical forest in southern Bahia, Brazil. *J. Bot. Res. Inst. Texas* 4: 333-346.
- MYERS, N., R. A. MITTERMEIER, C. G. MITTERMEIER, G. A. B. FONSECA & J. KENT. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- OSTROSKI, P., F. Z. SAITER, A. M. AMORIM & P. FIASCHI. 2018. Endemic angiosperms in Bahia coastal forests, Brazil: an update using a newly delimited area. *Biota Neotrop.* 18: e20180544. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2018-0544>
- SMITH, A. R. & M. KESSLER. 2018. Prodrômus of a fern flora of Bolivia. III. Selaginellaceae. *Phytotaxa* 344: 248-258. <https://doi.org/10.1164/phytotaxa.344.3.5>
- SPRING, A. F. 1840. Lycopodiaceae. II. *Selaginella*. In: VON MARTIUS, C.F.P. (ed.) Flora Brasiliensis Vol. 1(2), pp. 117-132. R. Oldenbourg, Leipzig.
- VALDESPINO, I. A. 1995. A monographic revision of *Selaginella* P. Beauv. subgenus *Heterostachys* Baker in Central and South America. Ph. D. Thesis, The City University of New York, USA.
- VALDESPINO, I. A. 2015a. Novelties in *Selaginella* (Selaginellaceae – Lycopodiophyta), with emphasis on Brazilian species. *PhytoKeys* 57: 93–133. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.57.6489>
- VALDESPINO, I. A. 2015b. Lectotypification of *Selaginella tenuissima* and *S. papagaiensis* (Selaginellaceae) with the description of *S. monticola*. *Phytotaxa* 233: 153-165. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.233.2.2>
- VALDESPINO, I. A. 2016. *Selaginella aculeatifolia* sp. Nov. (Selaginellaceae–Lycopodiophyta) from the

- foothills of Cerro Neblina, Venezuela. *Nord. J. Bot.* 34: 370–375. <https://doi.org/10.1111/njb.00954>
- VALDESPINO, I. A. 2019. *Selaginella ayitiensis* and *S. brigitteana* (Selaginellaceae); two new species from Hispaniola Island. *Willdenowia* 49: 71–80. <https://doi.org/10.3372/wi.49.49109>
- VALDESPINO, I. A., G. HERINGER, A. SALINO, L. A. A. GÓES-NETO & J. CEBALLOS. 2015. Seven new species of *Selaginella* subg. *Stachygynandrum* (Selaginellaceae) from Brazil and new synonyms for the genus. *PhytoKeys* 50: 61–99. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.50.4873>
- VALDESPINO, I. A. & C. A. LÓPEZ. 2019. *Selaginella moraniana* (Selaginellaceae – Lycopodiophyta): A new articulate species with puberulent lateral leaves from northwestern South America. *Brittonia* 72: 23–34. <https://doi.org/10.1007/s12228-019-09596-7>
- VALDESPINO, I. A., C. A. LÓPEZ & J. CEBALLOS. 2018a. *Selaginella germinans* (Selaginellaceae), a new articulate species from Chapada dos Veadeiros region in the State of Goiás Brazil. *Bot. Lett.* 165: 487–493. <https://doi.org/10.1080/23818107.2018.1496849>
- VALDESPINO, I. A., C. A. LÓPEZ, A. M. SIERRA & J. CEBALLOS. 2018b. From the Guiana Highlands to the Brazilian Atlantic Rain Forest: four new species of *Selaginella* (Selaginellaceae – Lycopodiophyta): *S. agioneuma*, *S. magnaforneensis*, *S. ventricose* & *S. zartmanii*. *PeerJ* 6: e4708. <https://doi.org/10.7717/peerj.4708>



HELECHOS Y LICOFITAS DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA “PAISAJE PROTEGIDO CERRO MBORORÉ” (MISIONES, ARGENTINA)

FERNS AND LYCOPHYTES FROM PROTECTED NATURAL AREA “PAISAJE PROTEGIDO CERRO MBORORÉ” (MISIONES, ARGENTINA)

Gonzalo J. Marquez^{1*}, Agustina Yañez² & Federico Castía³

SUMMARY

1. División Paleobotánica, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

2. Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (MACN-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

3. RUM - Parque Ecológico El Puma - Ministerio de Ecología y R. N. R., Posadas, Argentina

*cosme@fcnym.unlp.edu.ar

Citar este artículo

MARQUEZ, G. J., A. YAÑEZ & F. CASTÍA. 2024. Helechos y licofitas del Área Natural Protegida “Paisaje Protegido Cerro Mbororé” (Misiones, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 405-416.

DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v59.n3.44747>

Recibido: 16 Abr 2024
Aceptado: 7 Ago 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editora: Olga G. Martínez 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

Background and aims: In this work, the ferns and lycophytes of the Paisaje Protegido Cerro Mbororé, Oberá, Misiones, Argentina are studied. The phytogeographic importance of the area is discussed, since it is located in the transition between the District of the Mixed Forests and the District of the Fields, in the Amazonian Domain from the country.

M&M: The collected materials were deposited in the LP, BA, and SLP herbaria. For the identification of species, the Flora Argentina and local floras were used. The photographs taken in the field were uploaded to the iNarulist platform. The herbarium specimens studied are mentioned in this section.

Results: The study area has 32 species of ferns (nine families) and one species of lycophytes. The most diverse family is Pteridaceae, with six genera and 13 species, followed by Polypodiaceae, with three genera and four species. Four well-defined environments with particular associations of species are identified: the top of the hill, the high-altitude lagoon, the north slope and the south slope.

Conclusions: The environmental heterogeneity, product of the steep relief, and the transitional position of the area, generate a complex community of ferns and lycophytes with an important environmental value, which must be protected from the danger of the advance of the agricultural frontier and forestry exploitation.

KEY WORDS

Biodiversity, conservation, Misiones, Panambí.

RESUMEN

Introducción y objetivos: En este trabajo se relevan los helechos y licofitas del “Paisaje Protegido Cerro Mbororé”, Oberá, Misiones, Argentina. Se discute la importancia fitogeográfica del área, ya que se encuentra situada en la transición entre el Distrito de las Selvas Mixtas y el Distrito de los Campos, del Dominio Amazónico en el país.

M&M: Los materiales coleccionados fueron herborizados y depositados en los herbarios LP, BA y SLP. Para la identificación de especies se utilizó la Flora Argentina y floras locales. Las fotografías tomadas en el campo fueron cargadas en la plataforma iNarulist. Se mencionan en este apartado los ejemplares de herbario estudiados.

Resultados: El área de estudio presenta 32 especies de helechos (nueve familias) y una especie de licofitas. La familia más diversa es Pteridaceae, con seis géneros y 13 especies, seguida por Polypodiaceae, con tres géneros y cuatro especies. Se identifican cuatro ambientes bien definidos y con asociaciones de especies particulares: la cima del cerro, la laguna de altura, la ladera norte y la ladera sur.

Conclusiones: La heterogeneidad ambiental, producto del relieve escarpado, y la posición transicional del área, generan una comunidad compleja de helechos y licofitas con un importante valor ambiental, la cual debe ser protegida del peligro del avance de la frontera agropecuaria y la explotación forestal.

PALABRAS CLAVE

Biodiversidad, conservación, Misiones, Panambí.

INTRODUCCIÓN

El Cerro Mbororé (27°40'57"S 54°54'38,4"O) se encuentra situado en el municipio de Panambí, al sur del Departamento de Oberá, Misiones (Argentina). Fue declarado Área Natural Protegida con categoría de Paisaje Protegido por Ley Provincial XVI-N° 123/18, con el objetivo de conservar las 52 ha que conforman el cerro, sus áreas circundantes y una porción de la costa del río Uruguay. Desde el punto de vista biogeográfico, se encuentra en la Región Paranaense (Cabrera, 1976; Arana *et al.*, 2021). Específicamente está situado en un área transicional desde el Distrito de las Selvas Mixtas hacia el de los Campos. Para Martínez Crovetto (1963), esta área pertenece al Distrito Fluvial Uruguayense, caracterizado por una riqueza de especies más elevada que la selva circundante, producto de las crecidas del río Uruguay. Por las particularidades mencionadas, el estudio de la vegetación del cerro resulta de gran interés desde el punto de vista biogeográfico y para la conservación de la biodiversidad. El sitio posee una significación histórica adicional que lo convierte en una zona frecuentemente visitada por turistas y valorada por los pobladores locales. El 11 de marzo de 1641 se desarrolló en las inmediaciones del cerro la primera gran batalla naval de la historia argentina, con victoria de las tropas de las misiones jesuíticas guaraníes sobre los “bandeirantes” portugueses (Gianola Otamendi, 2016).

Hasta el momento, se conocen para la provincia de Misiones 185 especies de helechos y 15 de licofitas (Zanotti *et al.*, 2020; Macluf *et al.*, 2024). No obstante, los trabajos destinados a estudiar las particularidades de la distribución y estado de conservación de estos grupos dentro de la provincia han estado centrados fundamentalmente en áreas protegidas de la zona centro, como la Reserva Valle del Arroyo Cuñá Pirú (Marquez *et al.*, 2006), Reserva Guaraní (Tressens *et al.*, 2008) y Parque Provincial Moconá (Kelly *et al.*, 2019). Recientemente, Páez *et al.* (2023) han comunicado resultados parciales del Parque Nacional Iguazú. En contraposición, el estudio de la distribución en reservas de la zona sur de la provincia ha suscitado menos atención, pudiendo destacar

únicamente el relevamiento de Biganzoli & Múlgura de Romero (2004) en el Parque Provincial Teyú Cuaré.

El objetivo principal de este trabajo es relevar los helechos y licofitas del Paisaje Protegido Cerro Mbororé, presentarlos en una clave dicotómica y discutir la importancia del área desde el punto de vista fitogeográfico. Este trabajo forma parte de un proyecto mayor en curso, que busca analizar y comparar la diversidad y el estado de conservación de las especies de helechos y licofitas presentes en las áreas protegidas de la provincia de Misiones, Argentina (Yañez *et al.*, 2009; 2021; Ocampo Terraza *et al.*, 2017; Marquez *et al.*, 2023).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El Paisaje Protegido Cerro Mbororé está ubicado en un ambiente geomorfológico caracterizado por lomas de pendientes medias a cortas, con gradientes de hasta 20 %. El cerro está modelado por la erosión hídrica, y se caracteriza por pendientes disectadas y escarpadas, que terminan en un arroyo subsidiario del río Uruguay (C.A.R.T.A., 1962-1963). Estas características geológicas determinan que en un perímetro tan reducido se presente una heterogeneidad fisonómica muy marcada.

Metodología

Se estudiaron especímenes coleccionados en viajes de campo llevados a cabo entre el 2022 y 2024 al Paisaje Protegido Cerro Mbororé (Fig. 1A). Para realizar los muestreos, se identificaron cuatro sectores con ambientes bien definidos, en base a la fisonomía y las características edáficas: cima del cerro, laguna, ladera sur y ladera norte. La cima del cerro (pedregal) y la laguna ocupan áreas restringidas, de no más de dos hectáreas, por lo que se realizaron censos. Para la ladera sur, donde la selva primaria es característica, se realizó un transecta en sentido de la pendiente, desde el margen de la laguna hasta el límite del parque. En la ladera norte, donde abunda un bosque secundario, se realizó una transecta perpendicular a la pendiente, entre el margen del cerro y el límite

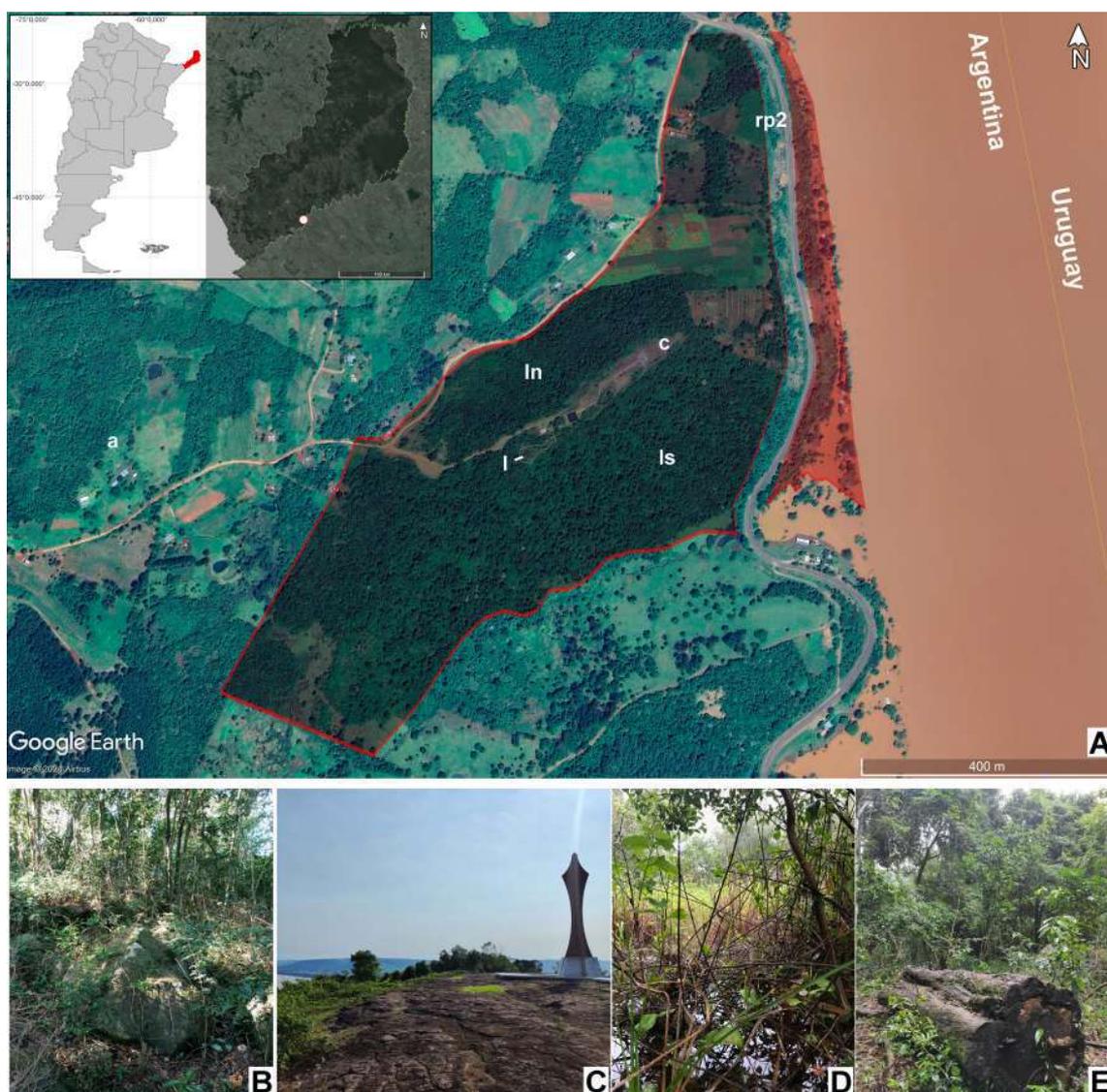


Fig. 1. Paisaje Protegido “Cerro Mbororé” y ambientes identificados. **A:** Localización del área. **B:** Ladera norte del Cerro Mbororé. **C:** Cima del Cerro Mbororé. **D:** Laguna de altura. **E:** Ladera sur del Cerro Mbororé. Abreviaturas= c: cima; l: laguna; ln: ladera norte; ls: ladera sur; rp2: ruta provincial 2. Fotos= C-E: Agustina Yañez; B= Ivan Magalhaes.

del parque (aquí están muy cercanos), desde el ingreso al predio y terminado en la cima. En todos los casos, se realizó una colección general de las especies que se encontraron. El material fue herborizado mediante técnicas convencionales y se encuentra depositado en los herbarios del Museo de La Plata, La Plata, Argentina (LP); Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino

Rivadavia”, Buenos Aires, Argentina (BA); e Instituto Misionero de Biodiversidad, Posadas Argentina (SLP) (Thiers, 2024).

Para la identificación de los individuos se utilizaron claves y descripciones presentes en la Flora Vasculare de la República Argentina (Ponce & Arana, 2016), en trabajos florísticos locales (Marquez *et al.*, 2006; Kelly *et al.*,

2019) y en tratamientos taxonómicos de algunos grupos en particular como Aspleniaceae (Sehnem, 1968; Ganem, 2018), Pteridaceae (Sehnem, 1972), Thelypteridaceae (Ponce, 1987) y Selaginellaceae (Hirai & Prado, 2000). Se siguió la clasificación propuesta por PPG I (2016) y se consultó la versión *online* de la Flora Vascular Argentina anteriormente mencionada para la actualización taxonómica de los nombres de las especies.

Las fotografías tomadas en el campo, así como los datos de geolocalización asociados, fueron cargadas en la plataforma iNarulatist.

Materiales estudiados. ARGENTINA. Prov. Misiones: *Dpto. Obera*, Paisaje Protegido Cerro Mbororé. Punta del cerro, alrededores del centro de visitantes y monumento: *Adiantopsis chlorophylla* (Sw.) Fée, 28-V-2022, Yañez *et al.* 648 (LP); *Adiantopsis dichotoma* (Sw.) T. Moore, 28-V-2022, Yañez *et al.* 653 (LP); *Anemia tomentosa* (Savigny) Sw. var. *anthriscifolia* (Schrad.) Mickel, 28-V-2022, Yañez *et al.* 652 (LP); *Doryopteris triphylla* (Lam.) H. Christ, 28-V-2022, Yañez *et al.* 651 (LP); *Ophioglossum reticulatum* L., 28-V-2022, Yañez *et al.* 649; *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Kaulf.) J. A. Thomson, 28-V-2022, Yañez *et al.* 647 (LP); *Selaginella sellowii* Hieron., 28-V-2022, Yañez *et al.* 650B (LP); *Selaginella sulcata* (Desv. ex Poir.) Spring ex Mart., 28-V-2022, Yañez *et al.* 650 (LP). Laguna detrás de la casa del guardaparque: *Adiantum pseudotinctum* Hieron., 29-V-2022, Yañez *et al.* 660B (LP); *Anemia phyllitidis* (L.) Sw., 29-V-2022, Yañez *et al.* 659 (LP); *Doryopteris concolor* (Langsd. & Fisch.) Kuhn, 29-V-2022, Yañez *et al.* 657 (LP); *Doryopteris pentagona* Pic. Serm., 29-V-2022, Yañez *et al.* 660 (LP); *Doryopteris triphylla* (Lam.) H. Christ, 29-V-2022, Yañez *et al.* 658 (LP); *Pleopeltis minima* (Bory) J. Prado & R.Y. Hirai, 29-V-2022, Yañez *et al.* 656 (LP); *Pleopeltis pleopeltifolia* (Raddi) Alston, 29-V-2022, Yañez *et al.* 655 (LP). Barranco, trillo hacia el Río Uruguay: *Asplenium brasiliense* Sw., 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 828 (LP); *Asplenium sellowianum* C. Presl ex Hieron., 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 829 (LP); *Campyloneurum nitidum* (Kaulf.) C. Presl, 29-V-2022, Yañez *et al.* 662

(LP); *idem*, 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 827 (LP); *Ctenitis submarginalis* (Langsd. & Fisch.) Ching, 29-V-2022, Yañez *et al.* 668 (LP); *Dennstaedtia globulifera* (Poir.) Hieron., 29-V-2022, Yañez *et al.* 666 (LP); *Diplazium cristatum* (Desr.) Alston, 29-V-2022, Yañez *et al.* 669 (LP); *Doryopteris arifolia* Christ, 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 826 (LP); *Goniopteris scabra* (C. Presl) Brade, 29-V-2022, Yañez *et al.* 667 (LP); *idem*, 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 830 (LP); *Hemionitis tomentosa* (Lam.) Raddi, 29-V-2022, Yañez *et al.* 661 (LP); *Parapolystichum effusum* (Sw.) Ching, 29-V-2022, Yañez *et al.* 664 (LP); *Pteris deflexa* Link, 29-V-2022, Yañez *et al.* 665 (LP); *Pteris denticulata* Sw. var. *denticulata*, 29-V-2022, Yañez *et al.* 663 (LP). Borde de la Ruta 2 en el ingreso al parque: *Pityrogramma trifoliata* (L.) R.M. Tryon, 29-V-2022, Yañez *et al.* 670 (LP). Ladera norte, sotobosque: *Adiantum pseudotinctum* Hieron. 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 823 (LP); *Anemia phyllitidis* (L.) Sw., 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 820 (LP); *Christella dentata* (Forssk.) Brownsey & Jermy, 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 822 (LP); *Doryopteris lorentzii* (Hieron.) Diels, 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 819 (LP); *Macrothelypteris torresiana* (Gaudich.) Ching, 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 824 (LP); *Pecluma filicula* (Kaulf.) M.G. Price, 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 825 (LP); *Pteris ensiformis* Burm. f. var. *victoriae* Baker, 13-III-2024, Marquez G.J. & Yañez A. 821 (LP).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Helechos y licofitas

El Paisaje Protegido Cerro Mbororé alberga 32 especies pertenecientes a nueve familias de helechos y una de licofitas (Tabla 1). La familia más diversa es Pteridaceae, con seis géneros y 13 especies, seguida por Polypodiaceae, con 13 géneros y cuatro especies, y luego por Thelypteridaceae, con tres géneros y tres especies. El resto de las familias están representadas por uno o dos taxones.

A continuación, se presenta una clave dicotómica de las especies presentes en el área de estudio:

14. Venación reticulada.
Pteris denticulata var. *denticulata*
- 14'. Venación libre o furcada.
15. Láminas 2-3-pinnado-pinnatifidas, monomorfas a subdimorfas, de contorno deltoide.
Pteris deflexa
- 15'. Láminas 1-2-pinnadas, dimórficas, de contorno aovado-oblongo.
Pteris ensiformis var. *victoriae*
- 11'. Láminas palmatipartidas, pedadas.
16. Láminas con venación anastomosada.
17. Presencia de yemas foliares en la base de la lámina.
Doryopteris arifolia
- 17'. Sin yemas foliares.
18. Venación totalmente reticulada.
Doryopteris pentagona
- 18'. Venación parcialmente reticulada, con areolas a lo largo de las venas medias.
Doryopteris lorentzii
- 16'. Láminas con venación libre.
19. Láminas pinnadas a pinatisectas, de 3 a 5 segmentos, pecíolos teretes.
Doryopteris triphylla
- 19'. Láminas 2-3-pinnatifidas, con pecíolo surcado con costillas laterales.
Doryopteris concolor
- 8'. Soros desnudos o cubiertos por indusios.
20. Soros alargados.
21. Indusios creciendo a ambos lados de la vena lateral.
Diplazium cristatum
- 21'. Indusios hacia un lado de la vena lateral.
22. Láminas enteras.
Asplenium brasiliense
- 22'. Láminas pinnadas.
Asplenium sellowianum
- 20'. Soros redondeados.
23. Soros marginales, protegidos por indusio con forma de copa.
Dennstaedtia globulifera
- 23'. Soros medianos, sobre la cara abaxial de la lámina.
24. Plantas epífitas. Pecíolos o pinnas articulados.
25. Lámina entera.
Campyloneurum nitidum
- 25'. Láminas pinnatifidas o pinnatisectas.
26. Láminas pilosas, con pelos claviformes en la cara abaxial.
Pechuma filicula
- 26'. Láminas con escamas.

27. Frondes menores de 12 cm, segmentos de menos de 1 cm de largo.
Pleopeltis minima
- 27'. Frondes mayores de 12 cm, segmentos de más de 1 cm de largo.
Pleopeltis pleopeltifolia
- 24'. Plantas terrestres. Pecíolos o pinnas no articulados.
28. Plantas con yemas prolíferas.
29. Soros con parafisos, láminas pinnado-pinnatífidas.
Goniopteris scabra
- 29'. Soros sin parafisos, láminas 3-pinnado-pinnatífidas.
Parapolystichum effusum
- 28'. Plantas sin yemas prolíferas.
30. Láminas 2-3-pinnado-pinnatífidas.
Macrothelypteris torresiana
- 30'. Láminas 1-pinnado-pinnatífidas.
31. Rizomas subrectos; ejes y láminas cubiertos por escamas anaranjadas.
Ctenitis submarginalis
- 31'. Rizomas rastreros o decumbentes; ejes y láminas pilosos.
Christella dentata

El paisaje y las poblaciones de helechos y licofitas

La distribución de las especies dentro del área estudiada no resultó homogénea, sino que se han observado ambientes bien diferenciados y caracterizados por distintas asociaciones. La cima del cerro (Fig. 1C) se encuentra dominada por una asociación de *Anemia tomentosa*, *Doryopteris triphylla*, *Ophioglossum reticulatum*, *Selaginella sellowii* y *S. sulcata*, mientras que en las laderas boscosas abundan especies de sotobosque, como *Ctenitis submarginalis*, *Diplazium cristatum*, *Goniopteris scabra*, *Hemionitis tomentosa*, *Parapolystichum effusum* y *Pteris denticulata*. Asimismo, también se hallaron diferencias entre laderas respecto a la distribución de estos últimos taxones (Fig. 1B, E). Finalmente, *Adiantum pseudotinctum* y representantes de los géneros *Doryopteris* J. Sm. y *Pleopeltis* Humb. & Bonpl. ex Willd. fueron comunes en una laguna hallada cerca de la cima (Fig. 1D).

En este sentido en el área en estudio se pueden distinguir cuatro ambientes bien delimitados. La primera es la cima del cerro (Fig. 1C), caracterizada por un suelo basáltico y expuesta al sol de forma permanente. La segunda es un cuerpo de agua semipermanente o laguna de altura (Fig. 1D), ubicado en las inmediaciones

del destacamento del guardaparque. La tercera es la ladera sur del cerro (Fig. 1E), cubierta por una selva madura, estratificada, aunque con permanente extracción de madera por parte de intrusos. La cuarta es la ladera norte del cerro (Fig. 1B), caracterizada por un bosque joven, bajo, abierto y poco estratificado, probablemente producto de una explotación reciente.

En la cima del cerro se observa una asociación conspicua, conformada por *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* (Fig. 2A), *D. triphylla* y *S. sellowii*, *S. sulcata* (Fig. 2B). En algunos parches, también se observa la presencia de *O. reticulatum* (Fig. 2C). Si bien algunas de estas especies, como *S. sellowii* y *A. tomentosa*, son características de ambientes áridos y climas extremos, y están bien representadas en el Chaco Seco o el Chaco Serrano, su presencia en Misiones ha sido bien documentada para zonas pedregosas y de alta exposición solar (Biganzoli & Múlgura, 2004; Marquez *et al.*, 2006; Kelly *et al.*, 2019). Particularmente para el área de estudio, la cercanía con el río Uruguay provoca una neblina nocturna diaria, que cubre y humedece el cerro. Esto da una posible explicación para el éxito de esta comunidad que no se encuentra protegida por ningún dosel.

Tabla 1. Lista de especies halladas en los distintos ambientes identificados en el Paisaje Protegido “Cerro Mbororé” y especímenes examinados. Abreviaturas= c: cima; l: laguna; ln: ladera norte; ls: ladera sur; rp2: Ruta provincial 2.

Especie	Sector
<i>Adiantopsis chlorophylla</i> (Sw.) Fée	c, ln
<i>Adiantopsis dichotoma</i> (Sw.) T. Moore	c, ln
<i>Adiantum pseudotinctum</i> Hieron.	l, ln
<i>Anemia phyllitidis</i> (L.) Sw.	l, ln
<i>Anemia tomentosa</i> (Savigny) Sw. var. <i>anthriscifolia</i> (Schrad.) Mickel	c, ln
<i>Asplenium brasiliense</i> Sw.	ls
<i>Asplenium sellowianum</i> C. Presl ex Hieron.	ls
<i>Campyloneurum nitidum</i> (Kaulf.) C. Presl	ls
<i>Christella dentata</i> (Forssk.) Brownsey	ln
<i>Ctenitis submarginalis</i> (Langsd. & Fisch.) Ching	ls
<i>Dennstaedtia globulifera</i> (Poir.) Hieron.	ls
<i>Diplazium cristatum</i> (Desr.) Alston	ls
<i>Doryopteris arifolia</i> Christ	ls
<i>Doryopteris concolor</i> (Langsd. & Fisch.) Kuhn	l, ln
<i>Doryopteris lorentzii</i> (Hieron.) Diels	ln
<i>Doryopteris pentagona</i> Pic.Serm.	l, ln
<i>Doryopteris triphylla</i> (Lam.) H. Christ	c, l
<i>Goniopteris scabra</i> (C. Presl) Brade	ls
<i>Hemionitis tomentosa</i> (Lam.) Raddi	ls, ln
<i>Macrothelypteris torresiana</i> (Gaudich.) Ching	ln
<i>Ophioglossum reticulatum</i> L.	c
<i>Parapolystichum effusum</i> (Sw.) Ching	ls
<i>Pecluma filicula</i> (Kaulf.) M.G. Price	ln
<i>Pityrogramma trifoliata</i> (L.) R.M. Tryon	rp2
<i>Pleopeltis minima</i> (Bory) J. Prado & R.Y. Hirai	l
<i>Pleopeltis pleopeltifolia</i> (Raddi) Alston	l
<i>Pteridium esculentum</i> subsp. <i>arachnoideum</i> (Kaulf.) J.A.Thomson	c, ln
<i>Pteris deflexa</i> Link	ls
<i>Pteris denticulata</i> Sw. var. <i>denticulata</i> Baker	ls, ln
<i>Pteris ensiformis</i> Burm. f. var. <i>victoriae</i> Baker	ln
<i>Selaginella sellowii</i> Hieron.	c
<i>Selaginella sulcata</i> (Desv. ex Poir.) Spring ex Mart.	c

En contraposición a la cima rocosa, la disponibilidad de agua de la laguna de altura, ubicada a escasos metros, se debe a la acumulación natural. Esta acumulación es provocada por las lluvias y las particularidades del terreno. En este ambiente pantanoso crecen distintas especies de helechos, más o menos adaptadas a la presencia de agua superficial

de manera semipermanente. Aquí se observa una concentración particular de epífitas, como *P. minima* (Fig. 2D) y *P. pleopeltifolia*. Esto indicaría que la humedad relativa del ambiente es elevada, en comparación con el resto del área protegida.

En lo que respecta a la ladera norte, se observó una importante presencia de *A. chlorophylla* (Fig. 2E), *A. tomentosa* var. *anthriscifolia*, *C. dentata*, *D. concolor* (Fig. 2F), *M. torresiana* y *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* (Fig. 2G). Estas especies tienen una amplia distribución en el NEA (Meza Torres *et al.*, 2013). Se caracterizan por estar presentes en ambientes abiertos o que han sido sometidos a algún tipo de disturbio (Yañez *et al.*, 2021). Esto resulta una evidencia adicional que permite sugerir que el área ha sufrido una importante presión antrópica en el pasado y que perdura en la actualidad. Finalmente, *Pityrogramma trifoliata* (Fig. 2H) fue otra especie colonizadora de ambientes abiertos observada en la base de la ladera norte, sobre el margen de la Ruta Provincial 2. En el mismo sentido, es destacable la presencia de *Pteris ensiformis* var. *victoriae* (Fig. 2I). Su posible proceso de naturalización en Argentina, particularmente en el norte de la provincia de Misiones, ha sido documentado recientemente por Yañez *et al.* (2023). Posteriormente a dicha publicación, se registró un ejemplar en iNaturalist para el Parque Provincial Foester, Dpto. General Manuel Belgrano (Leonard, 2023). El registro que se da a conocer en el presente artículo confirma su presencia en el Departamento de Oberá. Esto fortalece la hipótesis de su asilvestramiento en la provincia, particularmente dentro de áreas selváticas y en proceso de recuperación.

La ladera sur del Cerro Mbororé es el área mejor conservada, con un bosque alto y umbroso, que alberga típicos helechos de la selva mixta en un gradiente descendente. En este sentido, se observa una sucesión de asociaciones de especies. Las partes más altas y rocosas están conformadas por *C. nitidum* (Fig. 2J), *H. tomentosa* (Fig. 2K) y *P. denticulata* (Fig. 2L). En la base están conformadas por un sotobosque compuesto de *C. submarginalis*, *G. scabra*, *P. effusum* y *P. deflexa*, donde los suelos son más consolidados. Esta composición florística ha sido mencionada en trabajos previos para la zona centro y norte de Misiones (Marquez *et al.*, 2006; Tressens *et al.*, 2008; Ocampo Terraza *et al.*, 2017; Kelly *et al.*, 2019; Yañez *et al.*, 2021; Marquez *et al.*, 2023; Paez *et al.*, 2023).



Fig. 2. Especies halladas en el Paisaje Protegido “Cerro Mbororé”. **A:** *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*; **B:** *Selaginella sulcata*; **C:** *Ophioglossum reticulatum*; **D:** *Pleopeltis minima*; **E:** *Adiantopsis chlorophylla*; **F:** *Doryopteris concolor*; **G:** *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*; **H:** *Pityrogramma trifoliata*; **I:** *Pteris ensiformis* var. *victoriae*; **J:** *Campyloneurum nitidum*; **K:** *Hemionitis tomentosa*; **L:** *Pteris denticulata* var. *denticulata*. Fotos= A-E, G-H, J-K: Agustina Yañez; F, I, L: Gonzalo J. Marquez.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los datos presentados y discutidos en este trabajo, y comparando la información disponible para las regiones más selváticas de la provincia de Misiones, se observa un gradiente de disminución en el número de especies de nordeste a sudoeste (Tabla 2). Esto se acentúa si se amplía la comparación con los escasos trabajos existentes para estos grupos taxonómicos en las provincias de Corrientes (Arbo & Tressens, 2002; Meza Torres *et al.*, 2013) y Chaco (Dematteis & Meza Torres, 2015; Moli *et al.*, 2023). Asimismo, existe una marcada sustitución de especies, con grupos más resistentes a condiciones ambientales más secas hacia el sur. Meza Torres *et al.* (2013) mencionan que la influencia del Dominio Amazónico es determinante para justificar este marcado gradiente. Estos autores también señalan que, el Parque Nacional Mburucuyá (Corrientes), presenta un ecotono entre el Dominio Amazónico y el Dominio Chaqueño, basándose en un estudio comparativo de las especies del área con las de otras reservas cercanas. Estas conclusiones pueden ser similares

para el Cerro Mbororé, que podría representar un ambiente transicional o ecotono entre el distrito de los Campos y el de las Selvas Mixtas, del Dominio Amazónico.

Los resultados de este trabajo ponen de manifiesto la necesidad de preservar la flora del Paisaje Protegido “Cerro Mbororé”. La misma es heterogénea, transicional y se encuentra muy influenciada por el río Uruguay. Este tipo de áreas naturales tienen una importancia vital para conservación de comunidades poco estudiadas de helechos y licofitas. Esto es debido a que las mismas se encuentran influenciadas por factores ambientales particulares y amenazados por la presión agropecuaria y maderera.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Obtención del financiamiento: GJM, AY. Recolección de datos y captura de imágenes: GJM, AY y FJC. Diseño, realización de la investigación y análisis de datos: GJM, AY. Redacción del manuscrito: GJM, FJC. Preparación de las figuras: AY. Revisión del manuscrito: AY, FJC.

Tabla 2. Riqueza comparada en reservas estudiadas hasta el momento en el Noreste de Argentina.
* Resultados parciales.

Provincia	Reserva	Región	Nº de especies	Referencia
Misiones	Parque Nacional Iguazú	Selvas mixtas	81*	Paez <i>et al.</i> (2023)
Misiones	Parque Provincial Moconá	Selvas mixtas	67	Kelly <i>et al.</i> (2019)
Misiones	Parque Provincial Esmeralda	Selvas mixtas	70*	Ocampo Terraza <i>et al.</i> (2016, 2017)
Misiones	Parque Provincial Caa Yari	Selvas mixtas	68*	Yañez <i>et al.</i> (2009); Marquez <i>et al.</i> (2023)
Misiones	Reserva de Usos Múltiples Guaraní	Selvas mixtas	80	Tressens <i>et al.</i> (2008)
Misiones	Reserva Privada Valle del Arroyo Cuñá Pirú	Selvas mixtas	52	Marquez <i>et al.</i> (2006)
Misiones	Paisaje Protegido Cerro Mbororé	Ecotono Selvas mixtas y Campos	32	Este trabajo
Misiones	Parque Provincial Teyú Cuaré	Ecotono Selvas mixtas y Campos	37	Biganzoli & Múlgura (2004)
Corrientes	Parque Nacional Iberá	Ecotono campos, Chaco y Espinal	44	Arbo & Tressens (2002)
Corrientes	Parque Provincial Mburucuya	Ecotono campos, Chaco y Espinal	48	Meza Torres <i>et al.</i> (2013)
Chaco	Reserva Natural Educativa Colonia Benítez	Chaco húmedo	17	Dematteis & Meza Torres (2015)
Chaco	Parque Nacional El Impenetrable	Chaco seco	12*	Moli <i>et al.</i> (2023)

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Ecología y Recursos Naturales Renovables y al Instituto Misionero de Biodiversidad por otorgar los permisos de colección necesarios para la toma de muestras; a los integrantes del Cuerpo de Guardaparques, Roberto Moreira y Miguel Alzamendia (Paisaje Protegido “Cerro Mbororé”), por la hospitalidad y asesoramiento acerca del área de estudio; al Lic. Luciano Peralta y al Dr. Ivan Magalhaes por la enorme colaboración en las tareas de campo, a éste último especialmente por permitirnos usar una fotografía de su autoría. Esta investigación fue financiada por el Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) a través del PIP 0552/17 y el financiamiento para proyectos de “Ciencia Ciudadana” (N° 63), y por la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación a través del PICT 0043/17.

BIBLIOGRAFÍA

- ARANA, M. D., E. NATALE, N. FERRETTI, G. ROMANO, ... & J. J. MORRONE. 2021. Esquema biogeográfico de la República Argentina. *Opera Lilloana* 56: 1-238.
- ARBO, M. M & S. G. TRESSSENS (eds). 2002. *Flora del Iberá*. EUDENE-UNNE, Corrientes
- BIGANZOLI, F. & M. E. MÚLGURA DE ROMERO. 2004. Inventario Florístico del Parque Teyú Cuaré y alrededores (Misiones, Argentina). *Darwiniana* 42: 1-24.
<https://doi.org/10.14522/darwiniana.2014.421-4.150>
- CABRERA, Á. L. 1976. Regiones fitogeográficas argentinas. En: KUGLER, W. F. (ed.), *Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería*, 2ª. Ed., Tomo 2, Fasc. 1: 1-85, Acme, Buenos Aires.
- C.A.R.T.A. 1962-1963. *Mapa Edafológico de la Provincia de Misiones. Escala 1:400.000*. Compañía Argentina de Relevamientos Topográficos y Aerofotogramétricos. (Inédito)
- DEMATTEIS, B. & E. I. MEZA TORRES. 2015. Helechos y licofitas de la reserva natural educativa Colonia Benítez (Chaco, Argentina). *Bonplandia* 24: 27-36.
<https://doi.org/10.30972/bon.241206>
- FLORA VASCULAR ARGENTINA. Continuamente actualizada. <http://buscador.floraargentina.edu.ar/species/byscientificname> [Acceso: 25/02/2024].
- GANEM, A. 2018. *Revisión sistemática del género Asplenium L. (Aspleniaceae) en Argentina*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- GIANOLA OTAMENDI, A. E. 2016. La primera gran batalla naval en la historia argentina: Mbororé. *Boletín del Centro Naval* 844: 228-237.
- HIRAI, R. Y. & J. PRADO. 2000. Selaginellaceae Willk. in the state of São Paulo, Brazil. *Braz. J. Bot.* 23: 313-339.
- iNaturalist. Continuamente actualizada. <https://www.inaturalist.org> [Acceso: marzo 2024].
- KELLY, S. J., A. YAÑEZ, D. O. TERRAZA & G. J. MARQUEZ. 2019. Helechos y licofitas de la reserva de biosfera Yabotí, Misiones, Argentina: Parque Provincial Moconá. *Rodriguésia* 70: e00042018.
<https://doi.org/10.1590/2175-7860201970059>
- LEONARD, H. 2023. Observación de iNaturalist: <https://www.argentinat.org/observations/171314396>. [Acceso: abril 2024].
- MACLUF, C. C., G. J. MARQUEZ, H. A. KELLER & M. A. QUETGLAS. 2024. *Isoetes candelariensis*, a new species of Isoetaceae (Lycopodiidae) from Argentina. *An. Acad. Bras. Cienc.* 96: e20230087. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202420230087>
- MARTÍNEZ-CROVETTO, R. 1963. Esquema fitogeográfico de la provincia de Misiones (República Argentina). *Bonplandia* 1: 171-223.
- MARQUEZ, G. J., G. E. GIUDICE & M. M. PONCE. 2006. Pteridofitas de la Reserva “Valle del Arroyo Cuñá Pirú” (Misiones, Argentina). *Darwiniana* 44: 108-126.
<https://doi.org/10.14522/darwiniana.2014.441.126>
- MARQUEZ, G. J., A. YAÑEZ & F. J. CASTÍA. 2023. Diversidad de helechos y licofitas del Parque Provincial Caá Yari, Misiones, Argentina. En: *Resúmenes del VII Congreso Nacional de Conservación de la Biodiversidad*. Instituto Misionero de Biodiversidad, Puerto Iguazú.
- MEZA TORRES, E. L., E. R. SOTA DE LA & M. S. FERRUCCI. 2013. Sinopsis de los helechos y licofitos del Parque Nacional Mburucuyá (Corrientes, Argentina): claves de especies. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 48: 121-136.
- MOLI, L., A. SERRANO, A. YAÑEZ & G. J. MARQUEZ. 2023. Flora de Helechos y Licofitas del Parque Nacional “El Impenetrable”, Chaco, Argentina. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 58 (Supl.): 25.

- OCAMPOTERRAZA, D., A. YAÑEZ & G. J. MARQUEZ. 2017. Nuevas contribuciones a la flora de helechos y Licofitas del Parque Provincial Esmeralda (Misiones, Argentina). *Bol. Soc. Arg. Bot.* 52 (Supl.): 66.
- PAEZ, S., F. E. GATTI, W. MEDINA & E. I. MEZA TORRES. 2023. Helechos y licofitas del Parque Nacional Iguazú (Misiones, Argentina). *Bol. Soc. Arg. Bot.* 58 (Supl.): 298-299.
- PONCE, M. M. 1987. Revision of the Argentine Thelypteridaceae (Pteridophyta). *Darwiniana* 28: 317-390.
- PONCE, M. & M. D. ARANA (coords.). 2016. *Flora Vascular de La República Argentina 2: Licofitas, Helechos, Gymnospermae*. En: ZULOAGA, F. O. & M. J. BELGRANO (eds.), *Flora vascular de la República Argentina*, Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro.
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *J. Syst. Evol.* 54: 563-603.
- SEHNEM, A. 1968. Aspleniáceas. En: REITZ, R. (ed.), *Flora Ilustrada Catarinense I*, pp. 1-96. Herb. Barbosa Rodrigues, Itajaí.
- SEHNEM, A. 1972. Pteridáceas. En: REITZ, R. (ed.), *Flora Ilustrada Catarinense I*, pp. 1-244. Herb. Barbosa Rodrigues, Itajaí.
- THIERS, B. M. 2024 (Continuamente actualizada). Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Disponible en <http://sweetgum.nybg.org/science/ih>. [Acceso: 02/03/2024]
- TRESSENS, S. G., H. A. KELLER & V. REVILLA. 2008. Las plantas vasculares de la Reserva de uso múltiple Guaraní, Misiones (Argentina). *Bol. Soc. Arg. Bot.* 43: 273-293.
- YAÑEZ, A., G. J. MARQUEZ & M. A. GROSSI. 2009. Relevamiento preliminar de las Pteridophyta del Parque Provincial Caa Yari (Misiones, Argentina). *Bol. Soc. Arg. Bot.* 44 (Supl.): 213.
- YAÑEZ, A., M. M. PONCE & G. J. MARQUEZ. 2021. Evaluación del estado de conservación de helechos en Argentina: La categorización de especies presentes en la provincia de Misiones. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 56 (Supl.): 19.
- YAÑEZ, A., G. J. MARQUEZ, M. V. VIGNALE, E. M. GRASSI & F. J. CASTÍA. 2023. The exotic species *Pteris ensiformis* (Pteridaceae) in South America: an approach to naturalization process. *Rodriguésia* 74: e00502023. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202374080>
- ZANOTTI, C. A., H. A. KELLER & F. O. ZULOAGA. 2020. Biodiversidad de la flora vascular de la provincia de Misiones, región Paranaense Argentina. *Darwiniana n. s.* 8: 42-291. <https://doi.org/10.14522/darwiniana.2020.81.878>



LA ANATOMÍA DE LA RAÍZ COMO EVIDENCIA FILOGENÉTICA PARA LOS HELECHOS CHEILANTHOIDES (PTERIDACEAE)

ROOT ANATOMY AS PHYLOGENETIC EVIDENCE FOR CHEILANTHOID FERNS (PTERIDACEAE)

Marcela A. Hernández^{1*}, Olga G. Martínez², M. Amalia Scataglini³ & M. Mónica Ponce³

1. Instituto Criptogámico, Fundación M. Lillo, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina
2. Facultad de Ciencias Naturales-IBIGEO-CONICET, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina
3. Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro, Buenos Aires, Argentina

*marcela.alicia.hernandez@gmail.com

Citar este artículo

HERNÁNDEZ, M. A., O. G. MARTÍNEZ, M. A. SCATAGLINI & M. M. PONCE. 2024. La anatomía de la raíz como evidencia filogenética para los helechos Cheilanthoides (Pteridaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 417-432.

 DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v59.n3.44811>

Recibido: 19 Abr 2024
Aceptado: 30 Ago 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editora: Agustina Yañez 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: To our hypothesis on the evolutionary relationships of Cheilanthoid ferns, based on molecular data and partially on morphological and reproductive data, we add here a study of root anatomy in the genera of the subfamily occurring in South America.

M&M: Root characters were analyzed anatomically in 48 South American species representing the 12 genera of Cheilanthoideae occurring in South America. Techniques of plant histology were used for anatomical analysis and tissue characterization. Characters with possible diagnostic value were identified and mapped on a molecular phylogeny of Cheilanthoideae based on three plastidial markers (*rbcL*, *trnL-F* and *rps4*).

Results: The character “type of root cortex” showed a distribution of states that fit to the major clades or genera in the phylogeny of the subfamily. The homogeneous cortex state was plesiomorphic for Cheilanthoideae, whereas the heterogeneous cortex state was acquired by some genera of the hemionitoid clade: *Hemionitis* and the genera of the *Adiantopsis-Doryopteris* clade (except *Mineirella*). In addition, we discuss the role of different tissues in the root mechanics of this group.

Conclusions: The character “type of root cortex” could contribute to the characterization of genera and the generic assignment of confusing species in the classification of Cheilanthoideae. However, the complete resolution of the relationship of hemionitids clade in the global phylogeny of the subfamily is necessary.

KEY WORDS

Cheilanthoid ferns, endodermis, phylogeny, root anatomy, root cortex.

RESUMEN

Introducción y Objetivos: A nuestra hipótesis sobre las relaciones evolutivas de los helechos cheilanthoides, fundamentada en datos moleculares, y parcialmente por datos morfológicos y reproductivos, aquí se suma un estudio de la anatomía de la raíz en los géneros de la subfamilia con presencia en América del Sur.

M&M: Se analizaron anatómicamente caracteres radicales en 48 especies sudamericanas representando los 12 géneros de Cheilanthoideae con presencia en América del Sur. Para el análisis anatómico y caracterización de los tejidos se aplicaron técnicas de histología vegetal. Se identificaron caracteres con posible valor diagnóstico y se mapearon sobre una filogenia molecular de Cheilanthoideae basada en tres marcadores plastidiales (*rbcL*, *trnL-F* y *rps4*).

Resultados: El carácter “tipo de corteza radicular” mostró una distribución de estados que se ajustó a los principales clados o géneros de la filogenia de la subfamilia. El estado corteza homogénea resultó plesiomórfico para Cheilanthoideae, mientras que el estado corteza heterogénea habría sido adquirido por algunos géneros del clado hemionitoide: *Hemionitis* y los géneros del clado *Adiantopsis-Doryopteris* (excepto *Mineirella*). Adicionalmente, discutimos el rol de los diferentes tejidos en la mecánica de las raíces de este grupo.

Conclusiones: El carácter “tipo de corteza” podría contribuir a la caracterización de géneros y la asignación genérica de especies confusas en la clasificación de Cheilanthoideae. Sin embargo es necesaria la resolución completa de las relaciones filogenéticas dentro del clado hemionitoide en la filogenia global de la subfamilia.

PALABRAS CLAVE

Anatomía radicular, corteza radicular, endodermis, filogenia, helechos cheilanthoides.

INTRODUCCIÓN

La evolución de las raíces permitió una de las mayores innovaciones en la conquista del medio terrestre, ya que influenciaron tanto la estructura y tamaño de las plantas como la forma en que interactúan con el suelo. Las interacciones entre las raíces y su ambiente terrestre a lo largo del tiempo trajeron aparejados cambios en el suelo que a su vez promovieron cambios en los sistemas radiculares de las plantas (Kenrick & Crane, 1997; White *et al.*, 2013).

Estructuralmente la raíz, en corte transversal, está formada por la epidermis uniestratificada con pelos radiculares cuya función es el anclaje al suelo y la absorción de iones y agua (Emons & Ketelaar, 2009). Por debajo de la epidermis, la corteza está constituida por células parenquimáticas con o sin espacios intercelulares. La capa más interna de la corteza, la endodermis, está formada por un solo estrato de células con bandas de Caspary enriquecidas con suberina, lignina o ambos compuestos. Según el grado de desarrollo de las paredes celulares de la endodermis pueden presentar tres etapas o fases I, II y III (Priestley & Radcliffe, 1924; Scott & Peterson, 1979; Chapple & Peterson, 1987; Peterson & Enstone, 1996; Schreiber *et al.*, 1999; Geldner, 2013; Liška *et al.*, 2016). La fase I se caracteriza por la presencia de bandas con suberina, la fase II constituye una eficiente barrera apoplástica, formada por las láminas de suberina, y la fase III consiste en paredes de celulosa impregnada por lignina. La endodermis permite la entrada de iones a la estela por vía simplástica y favorece su movimiento centrípeto a través de los plasmodesmos, previene el retorno de iones del cilindro vascular hacia la corteza de la raíz por vías apoplástica, y protege contra infecciones y parásitos (Schreiber *et al.*, 1999; Hose *et al.*, 2001; Enstone *et al.*, 2003). Por debajo de la endodermis se encuentra el periciclo, de propiedades meristemáticas, que rodea al tejido vascular formado por xilema y floema, con función conductora, carecen de médula, y el protoxilema se dispone de manera exarca (Ogura, 1972).

Los helechos cheilanthoides en general crecen en regiones montañosas o serranas, en sustratos rocosos o pedregosos, en grietas de rocas y suelos poco profundos o ausentes, expuestos a una marcada insolación, alta variación de temperatura y escasez de agua, a veces en condiciones extremas.

Para absorber el agua disponible y minimizar su pérdida, las plantas de ambientes áridos desarrollan raíces con características morfológicas como la presencia de endodermis con paredes suberificadas, exodermis y tejidos lignificados (Dubrovsky & Shishkova, 2013). Entre los helechos de la familia Pteridaceae, han sido descritas la estructura de las raíces de algunas especies cheilanthoides, tales como *Doryopteris lorentzii* (Terán *et al.*, 2009), *D. concolor* (Hernández *et al.*, 2010), *Adiantopsis chlorophylla* (Hernández & Rodríguez, 2010), *Cheilanthes pilosa* (Hernández *et al.*, 2011a), *Trachypteris pinnata* (Hernández *et al.*, 2011b) y *Doryopteris triphylla* (Neira *et al.*, 2017).

Las filogenias moleculares de los helechos cheilanthoides basadas en marcadores plastidiales muestran siete clados a nivel global, de los cuales, cuatro tienen presencia en América del Sur (Windham *et al.*, 2009). En esta región, el clado mejor representado es el de los hemionitoides, que incluye a los géneros *Adiantopsis* Fée, *Doryopteris* J. Sm., *Gaga* Pryer, F. W. Li & Windham, y otros géneros menores (Link-Pérez *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2012; Yesilyurt *et al.*, 2015; Ponce & Scataglini, 2018, 2022). También incluye a *Cheilanthes* Sw., uno de los géneros más grandes de la subfamilia Cheilanthoideae, cuya circunscripción estricta fue propuesta por Ponce & Scataglini, (2018, 2022). Sin embargo, hasta el momento no existen estudios que integren la evidencia de las filogenias moleculares y la clasificación taxonómica con estudios anatómicos en los géneros de la familia.

Los objetivos de este estudio son: 1) analizar los caracteres anatómicos de la raíz en especies sudamericanas pertenecientes a diferentes géneros de los helechos cheilanthoides; 2) mapear los estados de los caracteres radiculares de interés sobre un árbol de filogenia molecular de Cheilanthoideae, a fin de analizar si alguno de ellos se ajusta a los clados planteados para la subfamilia y 3) discutir las funciones adaptativas de las estructuras radiculares en los helechos cheilanthoides.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

En el presente trabajo se estudió la anatomía radicular en 48 especies sudamericanas que

representan a 12 géneros cheilanthoides con presencia en América del Sur, dos de ellos cosmopolitas: *Cheilanthes* Sw. (ca. 25 especies sudamericanas/17 estudiadas) y *Pellaea* Link (ca. 5/4), y diez géneros neotropicales: *Adiantopsis* (ca. 20/4), *Argyrochosma* (J.Sm.) Windham (4/3), *Astrolepis* D.M. Benham & Windham (1/1), *Doryopteris* (ca. 20/5), *Gaga* (ca. 4/1), *Hemionitis* L. (ca. 4/1), *Lytoneuron* (Klotzsch) Yesilyurt (ca. 12/3), *Mineirella* Ponce & Scataglini (ca. 6/3), *Myriopteris* Fée (ca. 6/4), *Notholaena* R.Br. (3/1) y *Trachypteris* André ex Christ (2/1).

Material estudiado

Adiantopsis chlorophylla (Sw.) Fée. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Chicligasta*, Concepción, camino a la Laguna del Tesoro, 30-III-2013, Delgado 365 (LIL). *Adiantopsis dichotoma* (Sw.) T. Moore. ARGENTINA. Prov. Misiones: *Dpto. Apóstoles*, Parque Provincial de la Sierra Ing. Raúl Martínez Crovetto, 7-XI-2000, Múlgura et al. 2377 (SI). *Adiantopsis radiata* (L.) Fée. ARGENTINA. Prov. Corrientes: *Dpto. Ituzaingó*, Río Paraná, 6-V-2016, Dematteis et al. 20 (CTES). *Adiantopsis tweediana* (Hook.) Link-Pérez & Hickey. ARGENTINA. Prov. Corrientes: *Dpto. San Cosme*, Perichón, 29-IV-2007, Meza Torres et al. 654 (SI). *Argyrochosma flava* (Hook.) M. Kessler & A.R. Sm. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Trancas*, Vipos, 5-VI-2012, Delgado 90 (LIL). *Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Tafí del Valle*, El Rincón, 3-V-2014, Hernández et al. 3382 (LIL). *Argyrochosma tenera* (Gillies ex Hook.) M. Kessler & A.R. Sm. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Tafí del Valle*, El Rincón, 3-V-2014, Hernández et al. 3482 (LIL). *Astrolepis sinuata* (Lag. Ex Sw.) D.M. Benham & Windham. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Trancas*, San Pedro de Colalao, camino a Hualinchay, 1-VI-2014, Delgado 885 (LIL). *Cheilanthes arequipensis* (Maxon) R.M. Tryon & A. F. Tryon. ARGENTINA. Salta: *Dpto. Iruya*, El Roquedal camino de Iruya a Iturbe, 24-II-2007, Hernández & Albornoz 447 (LIL). *Cheilanthes buchtienii* (Rosenst.) R.M. Tryon. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Trancas*, Hualinchay camino a Lara, 16-XII-2011, Hernández et al. 2075 (LIL). *Cheilanthes glauca* (Cav.) Mett. ARGENTINA. Prov. Neuquén: *Dpto. Aluminé*, Lago Moquehue, 30-XI-2010, Zuloaga 12639

(SI). *Cheilanthes hieronymi* Herter. ARGENTINA. Prov. Buenos Aires: *Partido de Tornquist*, Sierra de la Ventana, 20-IV-1949, Krapovickas 2183 (SI). *Cheilanthes hypoleuca* (Kunze) Mett. CHILE. Prov. Bío Bío: Nacimiento, Fundo Tumbillo, Prov. de Malleco, 12-XI-1950, Pfister s.n. (LIL). *Cheilanthes micropteris* Sw. ARGENTINA. Prov. Salta: *Dpto. Cafayate*, El Divisadero, 9-IV-2009, Hernández et al. 1418 (LIL). *Cheilanthes mollis* (Kunze) C. Presl. CHILE. Coquimbo, Choapa, Pichidangui, s.f., Garaventa 6140 (SI). *Cheilanthes obducta* Mett. ex Kuhn. ARGENTINA. Prov. Santiago del Estero: *Dpto. Pellegrini*, El Remate, 28-III-2008, Hernández et al. 635 (LIL). *Cheilanthes pilosa* Goldm. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Tafí del Valle*, El Infiernillo, 21-V-2010, Hernández et al. 1380 (LIL). *Cheilanthes poeppigiana* Mett. ex Kuhn. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Trancas*, Hualinchay Camino a Lara, 16-XII-2011, Hernández et al. 2101 (LIL). *Cheilanthes pohliana* Mett. BRASIL. Goiás, Alto Paraíso de Goiás, GO-118, Serra da Baliza, 15-III-1995, Cavalcanti 1379 (SP). *Cheilantes regnelliana* Mett. ex Baker. BRASIL. Minas Gerais, Entre Rios de Minas, 1-10-1971, Krieger s.n. (CESJ 10907) (SI). *Cheilanthes pruinata* Kaulf. ARGENTINA. Prov. Tucumán: *Dpto. Tafí del Valle*, Camino a Amaicha del Valle, 10-II-2014, Hernández et al. 3228 (LIL). *Cheilanthes rufopunctata* Rosenst. BOLIVIA. Inquisivi, Carabuco, along the road between Choquetanga and Carabuco Power Station, 27-I-1990, Lewis 37011 (SI). *Cheilanthes sarmientoi* Ponce. ARGENTINA. Prov. San Juan. *Dpto. Jáchal*. Bella Vista, El Divisadero - El Salto, 10-III-2010, Ponce & Kiesling 112 (SI). *Cheilanthes squamosa* Gillies ex Hook. & Grev. ARGENTINA. Prov. Jujuy, *Dpto. Valle Grande*. Camino del Inca Santa Ana 2km antes de Valle Colorado, 26-II-2009, Hernández & Muruaga 929 (LIL). *Cheilanthes volcanensis* de la Sota. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Chicligasta*. Basin de Cochuna, 26-III-1978, Halloy 134 (LIL). *Doryopteris concolor* (Langsd. & Fisch.) Kuhn. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Monteros*. La Florida, 28-XI-2008, Hernández 1009 (LIL). *Doryopteris lorentzii* (Hieron.) Diels. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Yerba Buena*. Horco Molle, 20-VI-2014, Delgado 514 (LIL). *Doryopteris patula* (Fée) Fée. ARGENTINA. Prov. Tucumán, *Dpto. Monteros*. Quebrada de Caspinchango, 9-XII-2007, Lillo 8405 (LIL).

Doryopteris pentagona Pic. Serm. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Chicligasta*. Puestos de las Pavas a Saladillo, 23-III-1953, Meyer 18027 (LIL). *Doryopteris triphylla* (Lam.) Kaulf. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Trancas*. San Pedro de Colalao, camino a Hualinchay, 2-VII-2014, Delgado *et al.* 915 (LIL). *Gaga marginata* (Kunth.) F.W. Li & Windham. ARGENTINA. Prov. Tucumán. Tafi del Valle, Camino al Rincón, 10-II-2014, Hernández *et al.* 3436 (LIL). *Hemionitis tomentosa* (Lam.) Raddi. ARGENTINA. Prov. Jujuy. *Dpto. Ledesma*. Parque Nacional de Calilegua, 25-V-2011, Arana 1735 (LIL). *Lytoneuron crenulans* (Fée) Yesilyurt. ARGENTINA. Prov. Misiones, *Dpto. San Antonio*, Jardín. Salto del Tabay, 18-II-1978, Legname *et al.* 5956 (LIL). *Lytoneuron lomariaceum* (Kunze ex Klotzsch) Yesilyurt. BRASIL. Campo do Jordao, 1-II-1946, Leite 3338 (LIL). *Lytoneuron ornithopus* (Mett. ex Hook. & Baker) Yesilyurt. BRASIL. Minas Gerais, entre Congonhas y Belo Horizonte, 16-V-1957, Pereira 2402 - Pabat 3238 (LIL). *Mineirella geraniifolia* (Weath.) Ponce & Scataglini. BRASIL. Minas Gerais, Almenara, Fazenda Limoeiro, 29-II-2004, Salino *et al.* 9402 (BHCB). *Mineirella goyazensis* (Taub.) Ponce & Scataglini. BRASIL. Rio Grande do Sul, s.f., Lehn s.n (SI). *Mineirella venusta* (Brade) Ponce & Scataglini. BRASIL. Minas Gerais, Catas Altas, Serra do Caraça, 14-III-2002, Mota 2788 (BHCB). *Myriopteris aurea* (Poir.) Grusz & Windham. ARGENTINA. Prov. Jujuy, *Dpto. Valle Grande*. Santa Ana. Camino del Inca, 26-II-2009, Hernández & Muruaga 934 (LIL). *Myriopteris microphylla* (Sw.) Grusz & Windham. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Trancas*. San Pedro de Colalao. Camino a Hualinchay, 3-VII-2014, Delgado 901 (LIL). *Myriopteris myriophylla* (Desv.) J. Sm. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Tafi del Valle*. El Rincón, 3-V-2014, Hernández *et al.* 3374 (LIL). *Myriopteris notholaenoides* (Desv.) Grusz & Windham. ARGENTINA. Prov. Salta, La Candelaria, Potrero el Nogalito, 26-IV-1964, Jerez *et al.* 4901 C (LIL). *Notholaena sulphurea* (Cav.) J. Sm. ARGENTINA. Prov. Salta. Guachipas. El Cebilar, 29-XI-2008, Hernández *et al.* 820 (LIL). *Pellaea furcata* M.A.Hern. & O.G.Martínez. ARGENTINA. Prov. Jujuy, *Dpto. Valle Grande*. Santa Ana. Camino del Inca, 19-V-2012, Hernández *et al.* 2563 (LIL). *Pellaea ovata* (Desv.) Weath. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Trancas*. San Pedro de Colalao, 3-VII-2014, Delgado *et al.* 910

(LIL). *Pellaea sagittata* (Cav.) Link. MÉXICO. San Juanito, Segorachi near Mojarachi, 27-VII-1957, Knobloch 162 (LIL). *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link. ARGENTINA. Prov. Tucumán. *Dpto. Tafi del Valle*, Carapunco, 19-IV-2005, Hernández & Muruaga 62 (LIL). *Trachypteris pinnata* (Hook. f.) C. Chr. ARGENTINA. Prov. Santiago del Estero, *Dpto. Pellegrini*, El Remate, 28-III-2008, Hernández *et al.* 624 (LIL).

Análisis anatómico

Se trabajó con raíces frescas, material herborizado rehidratado con agua durante 12 hs. y raíces fijadas en FAA (1:1:8 v-v-v formalina: ácido acético glacial: alcohol etílico 80%) para estudios de microscopía óptica. Para los estudios anatómicos de raíz se realizaron cortes transversales a mano alzada. Las secciones se decoloraron, con hipoclorito de sodio (NaClO) comercial diluido en agua a una proporción de 1:1. Se lavaron cinco veces con agua destilada y se aplicó la coloración diferencial azul astra (0,5%) y safranina (1%) (Bruno *et al.*, 2007). Todos los preparados semi permanentes se montaron en agua y glicerina (1:1).

Para la caracterización y definición de algunos tejidos se realizaron las siguientes pruebas histoquímicas, en las secciones, previamente decoloradas. Para la verificación de la presencia de lignina en las endodermis se utilizó la técnica de floroglucina (1%) y ácido clorhídrico 25% (D'Ambrogio de Argüeso, 1986) y para visualizar la suberina y los lípidos en general se usó sudán III.

Para la definición de la fase en la que se encuentra la endodermis en los helechos estudiados y la determinación del tipo de compuestos presentes se utilizó la coloración diferencial safranina-azul astra, sudán III y test de floroglucina-HCl.

Las observaciones y fotografías de los cortes de raíz, se realizaron con un microscopio estereoscópico Nikon SMZ 800 con cámara de video, microscopio óptico Zeiss Axiostar con una cámara Canon Powershot A620 de 7,2 MP; y con un microscopio Olympus CX 41 con una cámara digital Mshot.

Análisis filogenético

A fin de obtener un árbol que represente la hipótesis filogenética de Cheilanthes, se construyó una matriz de datos moleculares incluyendo, como representantes de los

diferentes géneros cheilanthoides sudamericanos, fundamentalmente a las especies analizadas anatómicamente, con excepción de *Pellaea furcata* que no ha sido secuenciada hasta ahora. Se analizaron en total 54 taxones. La especie *Calciphlopteris ludens* (Wall. ex Hook.) Yesilyurt & H.Schneid. fue utilizada como grupo externo para enraizar el árbol.

Se utilizaron las secuencias de ADN pertenecientes a 3 marcadores plastidiales (*rbcL*, *trnL-F* y *rps4*) analizadas en la filogenia global de Cheilanthoideae en Ponce & Scatagliini (2018, 2022). Los tres marcadores concatenados totalizaron 3332 pares de bases, de las cuales 682 resultaron caracteres informativos.

La matriz se analizó bajo el método de parsimonia utilizando el programa TNT 1.1 (Goloboff *et al.*, 2008). Las búsquedas incluyeron 1000 repeticiones, cada una de las cuales generó un árbol de Wagner usando una secuencia de adición aleatoria de taxones de la matriz de datos, intercambiando el árbol inicial con TBR (bisección y reconexión de árboles) y reteniendo un máximo de 10 árboles en cada réplica. Posteriormente, todos los árboles óptimos se intercambiaron utilizando TBR, con un máximo de 20.000 árboles. Se generó un árbol de consenso estricto a partir de los árboles más parsimoniosos. Los soportes de las ramas se estimaron utilizando Bootstrap (BS) (Felsenstein, 1985) con un total de 10.000 repeticiones.

A fin de mapear el carácter tipo de corteza sobre la hipótesis molecular obtenida, se utilizó el comando “common mapping” de TNT, mediante el cual se visualizan las optimizaciones de los estados de los caracteres comunes de los árboles más parsimoniosos, sobre el árbol de consenso estricto.

RESULTADOS

Anatomía

Las raíces de los helechos muestran en sección transversal tres zonas: epidermis, corteza y cilindro vascular. Las características de cada una de las tres zonas en las especies aquí analizadas se detallan a continuación:

Epidermis: Uniestratificada, formada por células de paredes delgadas con pelos absorbentes unicelulares.

Corteza: Presenta dos tipos estructurales: 1) corteza homogénea: formada por un solo tipo de células, con distintos grados de engrosamiento y composición de sus paredes. Las paredes pueden tener el mismo grosor en todas las células corticales o pueden ser gradualmente diferentes, en cuyo caso el espesor de la pared aumenta hacia el cilindro vascular; si bien difiere levemente el grosor de la pared, corresponden a un mismo tipo de células. 2) corteza heterogénea: formada por dos tipos diferentes de células: parenquimáticas en la corteza externa y esclerenquimáticas en la corteza interna. En las raíces que presentan la corteza heterogénea, se evaluó la presencia de lignina en las células esclerenquimáticas con paredes fuertemente engrosadas con el test de floroglucina-HCl, el que resultó negativo en todas las especies (Tabla 1).

En particular, las especies analizadas presentaron los dos tipos de corteza. Se observaron 34 especies con corteza homogénea (Figs. 1; 2), mayormente compuesta por parénquima con células de paredes de distinto espesor o, menos frecuente, formada enteramente por esclerénquima, y 14 especies con corteza heterogénea (Fig. 3), constituida por ambos tejidos, parénquima y esclerénquima.

Las especies con corteza homogénea, correspondieron a los géneros: *Argyrochosma*, *Astrolepis*, *Cheilanthos*, *Gaga*, *Mineirella*, *Myriopteris*, *Notholaena*, y *Pellaea*. En 18 especies la corteza es parenquimática, uniforme, formada por células con paredes delgadas o engrosadas: *Cheilanthos arequipensis*, *C.glauca* (Fig. 1A), *C. hypoleuca* (Fig. 1B), *C. micropteris*, *C. mollis*, *C. obducta*, *C. pilosa* (Fig. 1C), *C. pruinata* (Fig. 1D), *C. rufopunctata* (Fig. 1E), *C. volcanensis* (Fig. 1F), *Myriopteris myriophylla* (Fig. 1G), *M. microphylla*, *M. notholaenoides*, *Notholaena sulphurea*, *Pellaea furcata* (Fig. 1H), *P. ovata*, *P. sagittata* (Fig. 1I) y *P. ternifolia* (Fig. 1J). En 15 especies, la corteza es parénquimática no uniforme, formada por células con paredes delgadas hacia la periferia y más engrosadas a fuertemente engrosadas próximas al cilindro vascular. Este tipo de parénquima se presenta en las siguientes especies: *Argyrochosma flava*, *A. nivea* (Fig. 2A), *A. tenera*, *Astrolepis sinuata*, *Cheilanthos buchtienii* (Fig. 2B), *C. hieronymi* (Fig. 2C),

Tabla 1. Cuadro comparativo de la anatomía de raíces de 48 especies de helechos Cheilanthes indicando tipo de corteza, características del parénquima y esclerenquima, y periciclo. Símbolos= *: homogénea (parénquima o esclerenquima) o heterogénea (parénquima y esclerenquima); **: uniforme o no uniforme (células de paredes engrosadas próximas al cilindro vascular); -: no corresponde.

Especie	Tipo de Corteza*	Presencia de parénquima	Uniformidad del parénquima**	Engrosamiento de las paredes del parénquima	Presencia de esclerenquima	Engrosamiento de las paredes de esclerenquima	Estratos del periciclo
<i>Adiantopsis chlorophylla</i> (Sw.) Fée	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	2 a 3
<i>Adiantopsis dichotoma</i> (Sw.) T. Moore	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1
<i>Adiantopsis radiata</i> (L.) Fée	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	2 a 3
<i>Adiantop(S)is tweediana</i> (Hook.) Link-Pérez & Hickey	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1
<i>Argyrochosma flava</i> (Hook.) M. Kessler & A.R. Sm.	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	1 a 2
<i>Argyrochosma nivea</i> (Poir.) Windham	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Argyrochosma tenera</i> (Gillies ex Hook.) M. Kessler & A.R. Sm.	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes fuertemente engrosadas	Ausente	-	2
<i>Astrolepis sinuata</i> (Lag. Ex Sw.) D.M. Benham & Windham	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Cheilanthes arequipensis</i> (Maxon) R.M. Tryon & A. F. Tryon	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Cheilanthes buchtienii</i> (Rosenst.) R.M. Tryon	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes fuertemente engrosadas	Ausente	-	1
<i>Cheilanthes glauca</i> (Cav.) Mett.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	2
<i>Cheilanthes hieronymi</i> Herter	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes engrosadas	-	-	2
<i>Cheilanthes hypoleuca</i> (Kunze) Mett.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	2
<i>Cheilanthes micropteris</i> Sw.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	1 a 2
<i>Cheilanthes mollis</i> (Kunze) C. Presl	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Cheilanthes obducta</i> Mett. ex Kuhn.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	1
<i>Cheilanthes pilosa</i> Goldm.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	1 a 2
<i>Cheilanthes poeppigiana</i> Mett. ex Kuhn	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	3
<i>Cheilanthes pohliana</i> Mett.	Homogénea	Ausente	-	-	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1
<i>Cheilantes regnelliana</i> Mett. ex Baker	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Cheilanthes pruinata</i> Kaulf.	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	1 a 2
<i>Cheilanthes rufopunctata</i> Rosenst.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	1
<i>Cheilanthes sarmientoi</i> Ponce	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	2
<i>Cheilanthes squamosa</i> Gillies ex Hook. & Grev.	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	2
<i>Cheilanthes volcanensis</i> de la Sota	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	3

Especie	Tipo de Corteza*	Presencia de parénquima	Uniformidad del parénquima**	Engrosamiento de las paredes del parénquima	Presencia de esclerénquima	Engrosamiento de las paredes de la esclerénquima	Estratos del periclio
<i>Doryopteris concolor</i> (Langsd. & Fisch.) Kuhn	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1 a 2
<i>Doryopteris lorentzii</i> (Hieron.) Diels	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1 a 2
<i>Doryopteris patula</i> (Fée) Fée	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1
<i>Doryopteris pentagona</i> Pic. Serm.	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1 a 2
<i>Doryopteris triphylla</i> (Lam.) Kaulf.	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	2
<i>Gaga marginata</i> (Kunth.) F.W. Li & Windham	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	2
<i>Hemionitis tomentosa</i> (Lam.) Raddi	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes engrosadas	2
<i>Lytoneuron crenulans</i> (Fée) Yesilyurt	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1
<i>Lytoneuron lomariaceum</i> (Kunze ex Klotzsch) Yesilyurt	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1
<i>Lytoneuron ornithopus</i> (Mett. ex Hook. & Baker) Yesilyurt	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes fuertemente engrosadas	1 a 2
<i>Mineirella geraniifolia</i> (Weath.) Ponce & Scataglioni	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	1
<i>Mineirella goyazensis</i> (Taub.) Ponce & Scataglioni	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes delgadas	Ausente	-	1
<i>Mineirella venusta</i> (Brade) Ponce & Scataglioni	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	1
<i>Myriopteris aurea</i> (Poir.) Grusz & Windham	Homogénea	Presente	No uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Myriopteris microphylla</i> (Sw.) Grusz & Windham	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Myriopteris myriophylla</i> (Desv.) J. Sm.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Myriopteris notholaenooides</i> (Desv.) Grusz & Windham	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2
<i>Notholaena sulphurea</i> (Cav.) J. Sm. & O.G.Martínez	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2 a 3
<i>Pellaea furcata</i> M.A.Hern.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2 a 3
<i>Pellaea ovata</i> (Desv.) Weath.	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2 a 3
<i>Pellaea sagittata</i> (Cav.) Link	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes fuertemente engrosadas	Ausente	-	1 a 2
<i>Pellaea ternifolia</i> (Cav.) Link	Homogénea	Presente	Uniforme	Paredes engrosadas	Ausente	-	2 a 3
<i>Trachypteris pinnata</i> (Hook. f.) C. Chr.	Heterogénea	Presente	Uniforme	Paredes delgadas	Presente	Paredes engrosadas	1

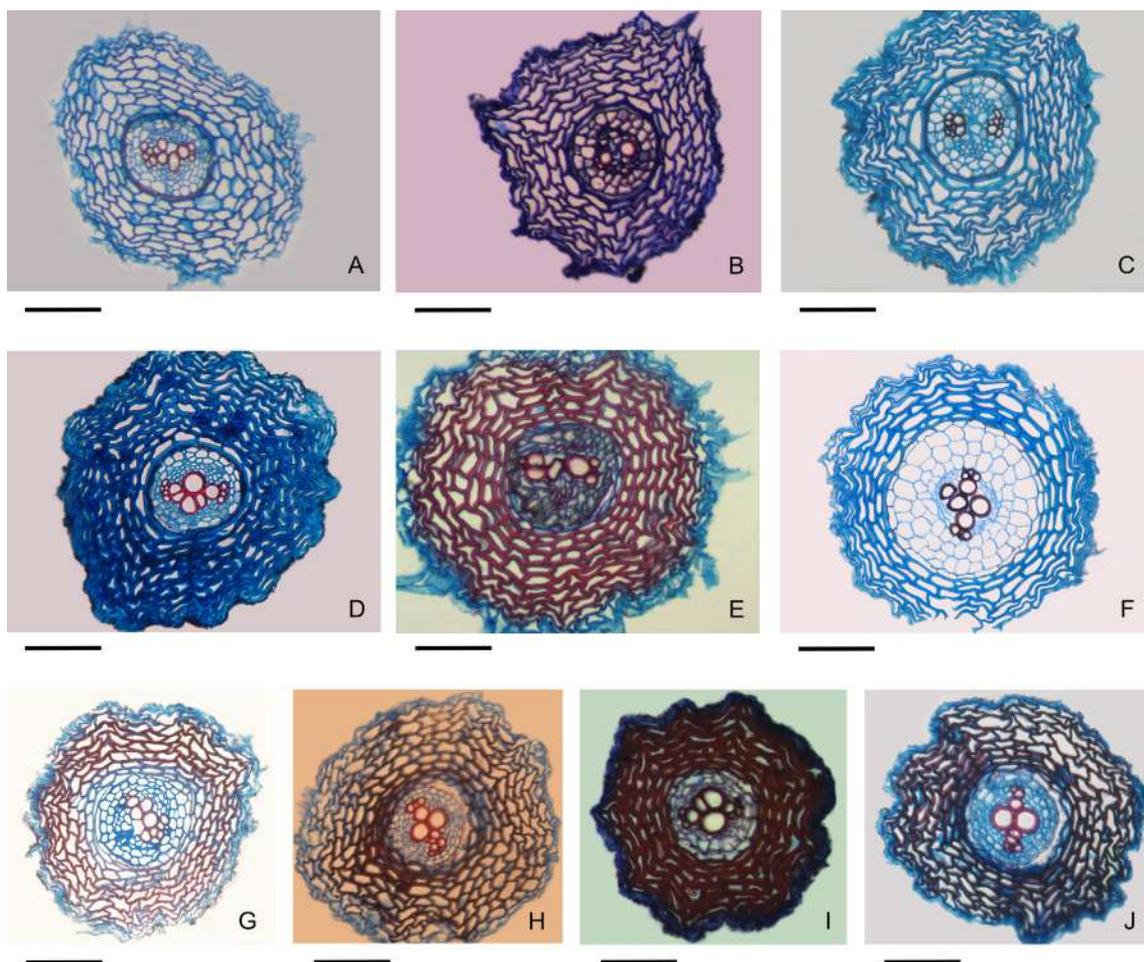


Fig. 1. Anatomía de las raíces de helechos cheilanthoides con corteza homogénea. **A:** *Cheilanthes glauca*. **B:** *Cheilanthes hypoleuca*. **C:** *Cheilanthes pilosa*. **D:** *Cheilanthes pruinata*. **E:** *Cheilanthes rufopunctata*. **F:** *Cheilanthes volcanensis*. **G:** *Myriopteris myriophylla*. **H:** *Pellaea furcata*. **I:** *Pellaea sagittata*. **J:** *Pellaea ternifolia*. Escalas= D, H: 90 μ m; A, B, C, E: 100 μ m; F, G: 110 μ m; I, J: 120 μ m.

C. poeppigiana (Fig. 2D), *C. regnelliana* (Fig. 2E), *C. sarmientoi*, *C. squamosa* (Fig. 2F), *Gaga marginata* (Fig. 2G), *Mineirella geraniifolia* (Fig. 2H), *M. goyazensis* (Fig. 2I), *M. venusta* (Fig. 2J), y *Myriopteris aurea*. Entre las especies de corteza homogénea *Cheilanthes pohliana* presenta corteza esclerenquimática, totalmente formada por esclereidas.

Las especies con corteza heterogénea corresponden a los géneros *Adiantopsis* (Fig. 3A-B), *Doryopteris* (Fig. 3C-F), *Hemionitis* (Fig. 3G), *Lytoneuron* (Fig. 3H-I) y *Trachypteris*

(Fig. 3J). Aquí, los tejidos, parénquima y esclerenquima, se diferencian netamente en dos zonas con una cantidad aproximadamente semejante de estratos celulares. La zona externa, parenquimática, formada por células grandes, isodiamétricas, angulosas, de paredes delgadas. La zona interna, esclerenquimática, con espacios intercelulares reducidos, tiene células pequeñas de lumen mínimo y paredes celulares generalmente fuertemente engrosadas (esclereidas o fibras). Ambas zonas de la corteza resultaron negativas para el test de floroglucina.

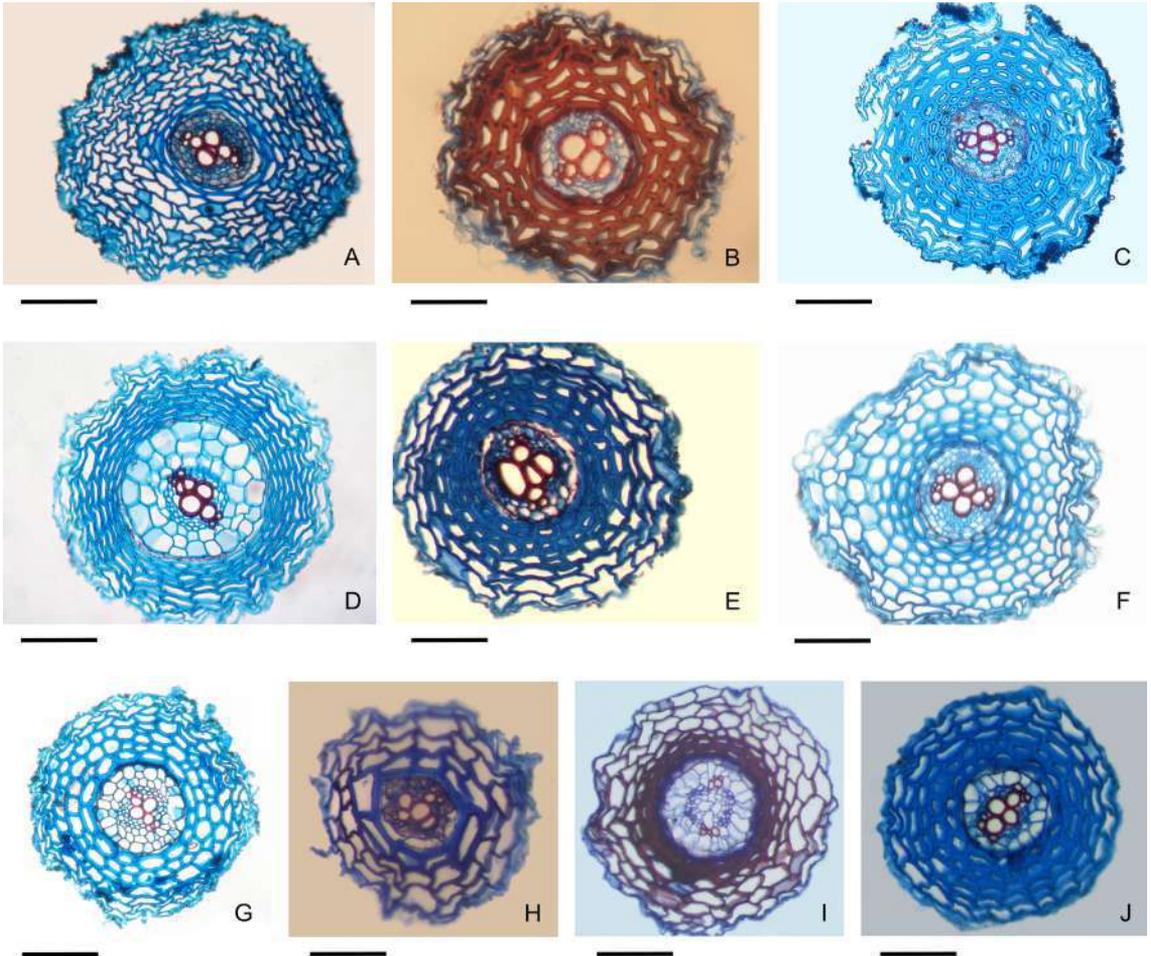


Fig. 2. Anatomía de las raíces de helechos cheilanthoides con corteza homogénea. **A:** *Argyroschisma nivea*. **B:** *Cheilanthes buchtienii*. **C:** *Cheilanthes hieronymi*. **D:** *Cheilanthes poeppigiana*. **E:** *Cheilanthes regnelliana*. **F:** *Cheilanthes squamosa*. **G:** *Gaga marginata*. **H:** *Mineirella geraniifolia*. **I:** *Mineirella goyazensis*. **J:** *Mineirella venusta*. Escala= B, H: 90 µm; E, I, J: 100 µm; A, C, D, F: 120 µm; G: 150 µm.

Endodermis: Constituye la capa más interna de la corteza; todas sus células poseen capas delgadas de suberina en las paredes internas. No se observaron depósitos de lignina en ninguna de las especies analizadas, ubicar a la endodermis en fase II. Se puede inferir que el grupo cheilanthoides no alcanza un nivel mayor o fase III.

Los tests de floroglucina-HCl y de sudán III permitieron verificar además que ninguna de las especies estudiadas posee exodermis. En estas especies la endodermis resultó positiva a

las pruebas de suberina realizadas con sudán III y presentaron además abundantes gotas de aceite tanto en la endodermis como en el cilindro vascular.

Sistema vascular: Todas las especies estudiadas presentaron una estela diarca, con el protoxilema exarco. El protoxilema presentó traqueidas con engrosamientos anulares o escalariformes, y el metaxilema, traqueidas escalariformes o tráqueas en algunos casos. El floema se encuentra en posición lateral a ambos lados del xilema en el cilindro vascular.

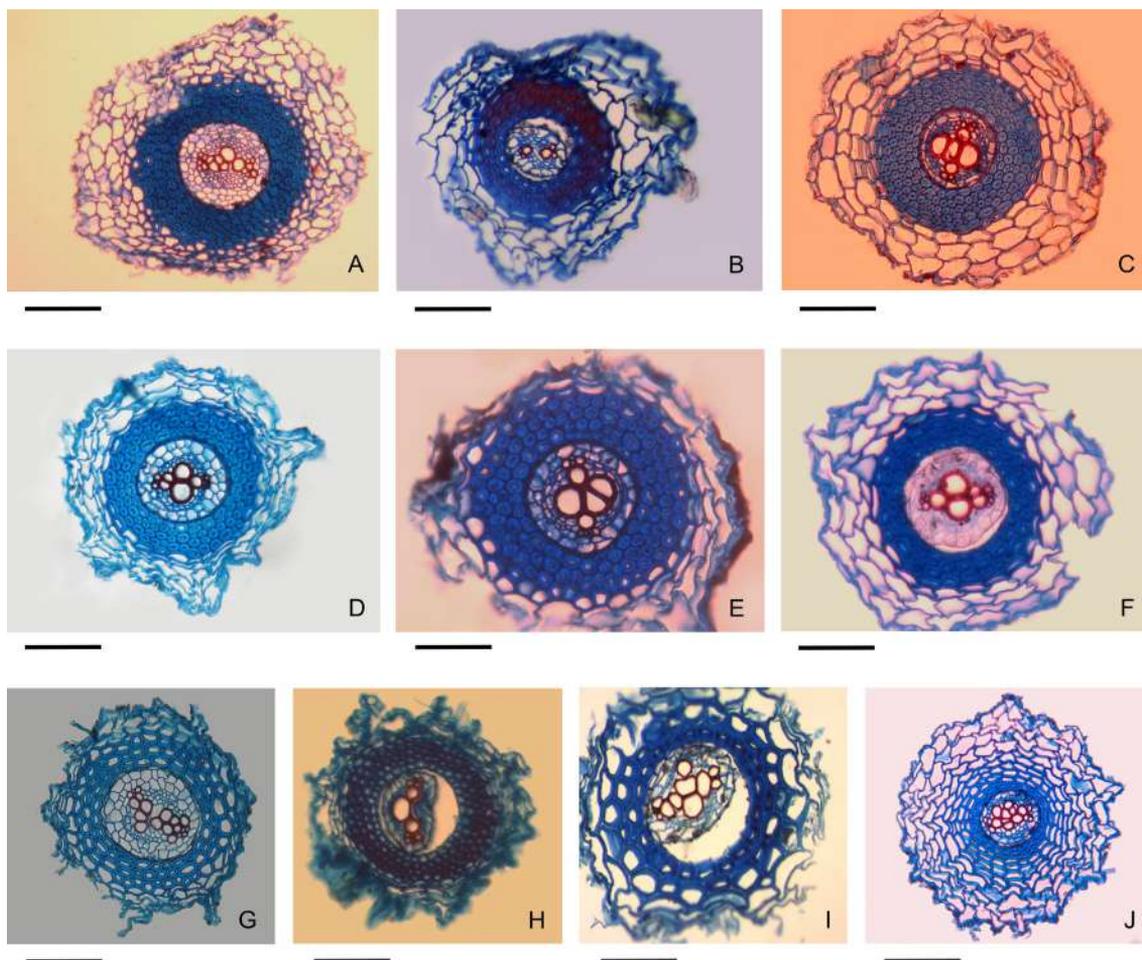


Fig. 3. Anatomía radicular de helechos cheilanthoides con corteza heterogénea. **A:** *Adiantopsis chlorophylla*. **B:** *Adiantopsis tweediana*. **C:** *Doryopteris concolor*. **D:** *Doryopteris lorentzii*. **E:** *Doryopteris pentagona*. **F:** *Doryopteris triphylla*. **G:** *Hemionitis tomentosa*. **H:** *Lytoneuron crenulans*. **I:** *Lytoneuron lomariaceum*. **J:** *Trachypteris pinnata*. Escala= A, B, D, J: 150 μ m; C, E, F, G, I: 100 μ m; H: 80 μ m.

Periciclo: Se observó que el número de estratos del periciclo es de 1 a 3, con células isodiamétricas de paredes delgadas, a veces de tamaños variables. En los casos que el periciclo de una especie posee 2-3 estratos, en general disminuye su número a la altura de los puntos protoxilemáticos. Se registraron hasta tres estratos en *Adiantopsis chlorophylla*, *A. radiata*, *Cheilanthes poeppigiana*, *C. volcanensis*, *Pellaea furcata*, *P. ovata*, y *P. sagittata* (Tabla 1).

Filogenia molecular y mapeo del carácter tipo de corteza

El análisis filogenético de Cheilanthoideae con representantes de los géneros sudamericanos, arrojó como resultado 192 árboles más parsimoniosos de 1887 pasos. El consenso estricto de los mismos se muestra en la Figura 4. El árbol filogenético obtenido recuperó con buen soporte los cuatro grandes grupos propuestos tradicionalmente para Cheilanthoideae en América del Sur (Windham *et al.*, 2009): por un lado, el clado de myriopteroides

(99%) y pellaoides (100%) y por el otro, el clado de notholaenoides y hemionitoides (92%), nombres de acuerdo a Windham *et al.* (2009) (Fig. 4). A su vez, dentro del grupo de los hemionitoides, se recuperaron con buen soporte la mayor parte de los géneros sudamericanos. Sin embargo, al igual que en las filogenias globales, las relaciones más basales entre géneros o grupos de géneros dentro de hemionitoides, quedaron sin resolver (Ponce & Scataglini, 2018, 2022). Específicamente, en el árbol obtenido, las relaciones basales entre el género *Hemionitis* y los clados *Cheilanthes-Gaga* y *Adiantopsis-Doryopteris* y *aff.* se muestran irresueltas.

Por otro lado, al igual que en las filogenias globales antes mencionadas, las especies *Cheilanthes pohliana* y *C. regnelliana* resultaron estar relacionadas al género *Mineirella*.

Sobre el árbol molecular obtenido se realizó el mapeo del carácter “tipo de corteza” (homogénea-heterogénea) y se observó que la distribución de los estados del carácter se ajustó a géneros y/o clados de la subfamilia. Específicamente, las raíces con corteza homogénea se encontraron en las especies de los géneros *Argyrochosma*, *Astrolepis*, *Myriopteris* y *Pellaea* para los cheilanthoides en general y en *Cheilanthes*, *Gaga*, *Mineirella* y *Notholaena* para los hemionitoides en particular. A su vez, las raíces con corteza heterogénea se restringieron al clado hemionitoide, específicamente en los géneros *Adiantopsis*, *Doryopteris*, *Hemionitis*, *Lytoneuron* y *Trachypteris* (Fig. 4).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Organización de la anatomía radicular

La epidermis de todas las raíces estudiadas posee paredes delgadas, lo que coincide con lo citado para especies de helechos no cheilanthoides, *Asplenium*, *Polypodium s. l.* y *Adiantum* (Ogura, 1972).

Las raíces con corteza heterogénea, definidas en este trabajo, fueron reportadas para otras familias de helechos: Aspleniaceae, Polypodiaceae e Hymenophyllaceae (Chapple & Peterson, 1987; Schneider, 1997, 2000; Leroux *et al.*, 2011; Luna *et al.*, 2020; Hernández *et al.*, 2014; Wetzel *et al.*, 2017). En estas familias las raíces en general presentan dos tipos de tejidos: parenquimático, de posición externa y esclerenquimático, de

posición interna. Además, son frecuentes células de paredes muy gruesas que difieren de las restantes, denominadas idioblastos, las que se ubican a nivel de los puntos protoxilemáticos. Estos idioblastos interrumpen los estratos esclerenquimáticos (Schneider, 1997, 2000) y funcionan como células de paso (Ogura, 1972). La presencia de estos idioblastos, caracteriza a las raíces de Aspleniaceae, Hymenophyllaceae y Polypodiaceae, mientras que en las raíces heterogéneas de los helechos cheilanthoides el tejido esclerenquimático es continuo en la corteza interna, ya que carece de interrupciones.

Ogura (1972) describe células con paredes ligeramente más gruesas próximas al cilindro vascular, y les atribuye la función de sostén “supporting sheath”, que en nuestro estudio se encuentran en algunas especies de corteza homogénea, tales como *Argyrochosma flava*, *A. tenera*, *Cheilanthes buchtienii*, *C. hieronymi*, *C. pilosa*, *C. sarmientoi*, *C. squamosa*, *Mineirella geraniifolia*, *M. goyazensis*, *M. venusta*, *Myriopteris aurea*, *Pellaea furcata*, *P. ovata*, *P. sagittata*, y *P. ternifolia*, donde a pesar de presentar un solo tipo de tejido, las células próximas al cilindro vascular tienen paredes gradualmente más engrosadas.

Nuestros estudios indican que los helechos analizados carecen de exodermis, lo que coincide con los resultados de Damus *et al.* (1997), quienes reportan que la exodermis se presenta en el 90% de las angiospermas, está ausente en las gimnospermas y solo se registran en algunas licofitas (*Selaginella* y *Lycopodium*) y helechos (*Equisetum* y *Ophioglossum*). La presencia generalizada de la exodermis indica que este rasgo debe haber surgido más de una vez durante la historia evolutiva de las plantas vasculares (Peterson, 1992; Damus *et al.*, 1997).

Las plantas depositan polímeros hidrófobos, como la lignina o la suberina, en las paredes celulares para proteger los tejidos internos y facilitar la absorción selectiva de solutos (Andersen *et al.*, 2021). En los helechos cheilanthoides estudiados, la endodermis carece de lignina y no se observaron células de paso, alcanzando así la fase II descrita por Priestley & Radcliffe (1924), quienes señalan que las células de paso son temporales y no están presentes en esta fase. Su endodermis presenta suberina, que facilitaría el bloqueo apoplástico, constituyendo una barrera eficiente en plantas de

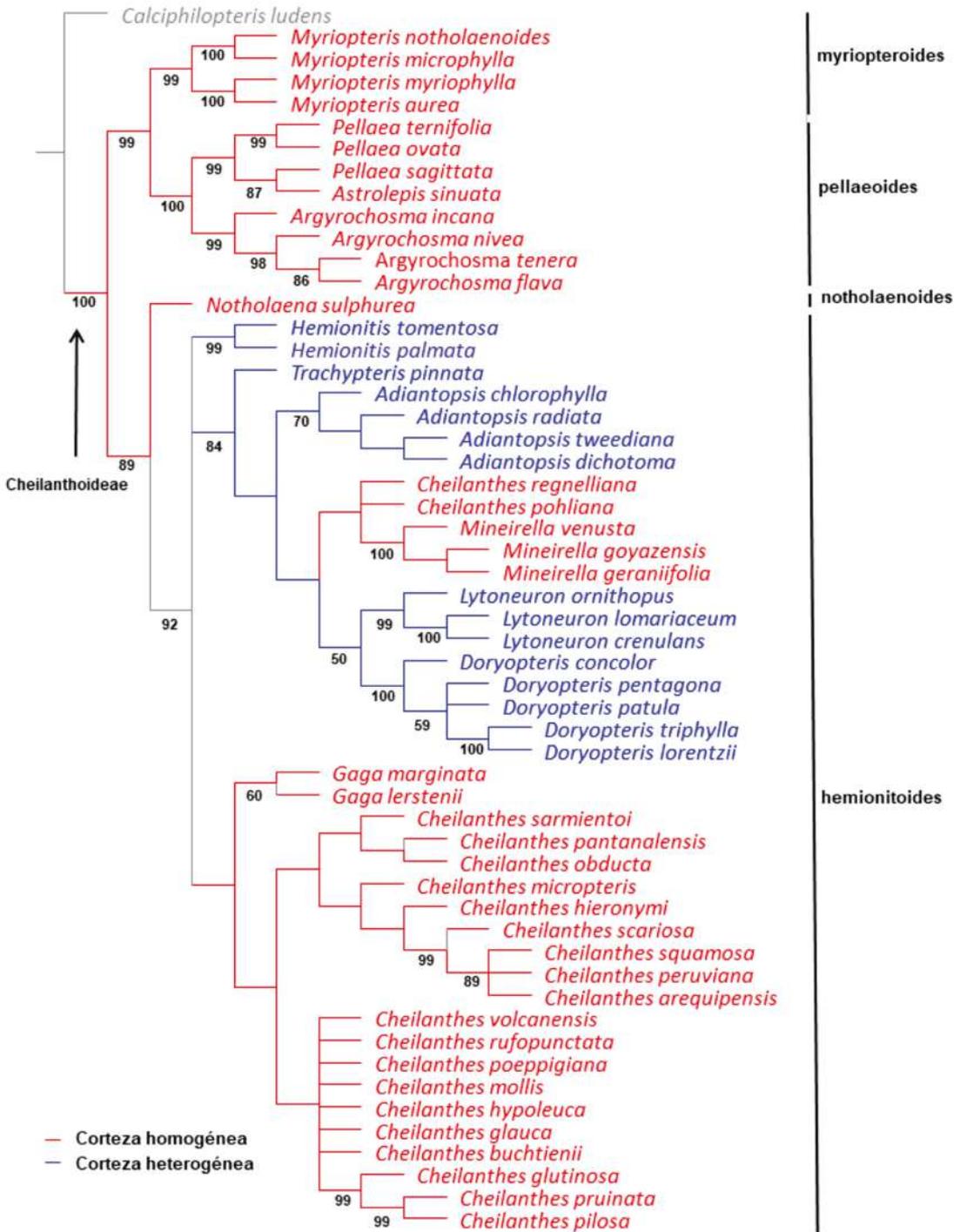


Fig. 4. Árbol de consenso estricto obtenido del análisis de tres marcadores plastidiales (*rbcL*, *trnL-F* y *rps4*) para los géneros cheilantheoides con presencia de América del Sur. Se identifican los cuatro clados de Cheilantheoideae según Windham *et al.*, 2009. Los soportes de Bootstrap mayores a 60% se indican bajo las ramas. Sobre la filogenia molecular obtenida, se muestra la distribución de los estados del carácter “tipo de corteza radicular”.

ambientes xéricos, ya que protege la pérdida de agua y facilita el intercambio de iones y nutrientes en condiciones hídricas muy limitadas (Líška *et al.*, 2016). El desarrollo del sistema radicular y su proceso fisiológico ha sido poco abordado en los helechos, siendo *Ceratopteris richardii* Brongn., una especie acuática, la mejor estudiada (Hou *et al.*, 2004).

Para linajes de plantas vasculares, diferente de los helechos, se han realizado numerosos aportes sobre las raíces, que también podrían encontrarse en las filicíneas. Por ejemplo, Peterson & Enstone (1996) y Enstone & Peterson (2005) indican que la escasez de agua promueve el desarrollo temprano de la endodermis; Geldner, (2013) señala que el estrés hídrico producido por la falta de agua y la fuerte radiación UV provoca la suberificación temprana de las células de paso, sellando el cilindro vascular cerca del ápice radicular para evitar la pérdida de agua; y Andersen *et al.* (2021) determinan que la producción de fenilpropanoide en la planta es esencial para el establecimiento de la banda endodérmica, así como la adherencia de la matriz de suberina a la pared celular de la endodermis.

En el cilindro vascular, los resultados obtenidos en cuanto a la posición y características del protoxilema y al predominio del esquema diarco en el cilindro vascular, son coincidentes con Ogura (1972), Schneider *et al.* (2002), Leroux *et al.* (2011), Hernández *et al.* (2014) y Luna *et al.* (2020) para Aspleniaceae, Polypodiaceae y otros grupos de helechos.

La presencia de gotas de lípidos observadas tanto en la endodermis como en células de periciclo, floema y xilema, también fue mencionada por Priestley & Radcliffe (1924) y Chapple & Peterson (1987), e interpretada, por estos autores, como una endodermis temprana previa a la formación continua de suberina en sus células.

Mapeo de caracteres en la filogenia

Respecto al mapeo de caracteres anatómicos radicales sobre la filogenia molecular de Cheilanthoideae, se demostró que el carácter tipo de corteza (homogénea-heterogénea) seguiría un patrón filogenético coincidente con la sistemática de la subfamilia y podría ser utilizado como carácter diagnóstico para ubicar taxonómicamente especies con posición incierta dentro del grupo.

El estado “corteza homogénea” resultó plesiomórfico dentro de Cheilanthoideae, ya que tanto el clado pellaeoides-myriopteroides, los notholaenoides y algunos géneros hemionitoides (específicamente *Cheilanthes*, *Gaga* y *Mineirella*) presentan este tipo de corteza. A su vez, el estado “corteza heterogénea” aparece en el árbol como un estado derivado, restringido a algunos géneros del clado hemionitoide: *Hemionitis*, y el clado formado por *Trachypteris*, *Adiantopsis-Doryopteris* y *aff.*, excepto en *Mineirella* (Fig. 4).

Respecto a la excepción en el género *Mineirella*, que presenta corteza homogénea dentro de un clado que parece haber adquirido el estado de corteza heterogénea, podría tratarse de una reversión del estado de carácter. Sin embargo, se necesita un análisis más minucioso, dado que la corteza homogénea de *Mineirella* no es exactamente igual a la corteza homogénea de los otros géneros hemionitoides: *Mineirella* presenta parénquima no uniforme, al igual que otros géneros cheilanthoides como *Argyrochosma* y *Astrolepis*, mientras que *Cheilanthes* y *Gaga* presentan parénquima uniforme (Tabla 1). El caso especial de *Mineirella* se analizará con más detalle en un trabajo específico sobre el género, que se encuentra en preparación por las autoras de este artículo. En dicho trabajo se analizarán también las especies *Cheilanthes pohliana* y *C. regnelliana* que concuerdan con las especies de *Mineirella* en su posición filogenética y el tipo de corteza.

Dado que las relaciones de los clados dentro de los hemionitoides no se han podido resolver completamente aún en los estudios de filogenia molecular de Cheilanthoideae a nivel global, no es posible establecer claramente la reconstrucción ancestral del carácter tipo de corteza para dicho clado. La presencia de corteza heterogénea en *Hemionitis* sería una evidencia que apoya la relación de este género con el clado de *Adiantopsis-Doryopteris*, más que con el de *Cheilanthes-Gaga*. Sin embargo, es posible que la adquisición del estado corteza heterogénea se haya producido más de una vez dentro del grupo. Por lo tanto, la hipótesis evolutiva de este carácter anatómico para los hemionitoides deberá ser corroborada con nuevos muestreos globales que alcancen la total resolución de las relaciones filogenéticas dentro del clado hemionitoide.

Características adaptativas

Los helechos cheilanthoides habitan en ambientes extremos, tanto por la escasez de suelo y agua así como por la alta irradiación. Dubrovsky & Shishkova (2013) y Poot *et al.* (2012) sostienen que las plantas que crecen entre las grietas de rocas con suelos poco profundos, son poco tolerantes a la irradiación solar, poseen alta eficiencia en la absorción de agua y mecanismos para evitar su pérdida. La anatomía de las especies de este estudio indicaría la existencia de tales estrategias. Asimismo, ante la ausencia de exodermis, en los helechos cheilanthoides la endodermis y las células de la corteza constituyen la barrera protectora del transporte pasivo de iones y agua entre las soluciones del suelo y el cilindro central.

Las especies que poseen raíces con corteza heterogénea cuentan con una protección adicional del cilindro vascular, ya que la corteza interna genera soporte mecánico y permite el intercambio de agua al no estar lignificada. En este sentido constituyen adaptaciones eficientes para establecerse y desarrollarse en ambientes áridos o semiáridos. Este tipo de corteza está presente en las especies de los géneros *Adiantopsis*, *Doryopteris*, *Hemionitis*, *Lytoneuron*, *Ormopteris* J. Sm. y *Trachypteris* que encuentran su mayor diversidad en el Planalto y Cerrado de Brasil.

Las especies que poseen raíces con corteza homogénea tienen tejidos con un engrosamiento gradual de las paredes celulares, a veces dependiendo de la edad de la planta, que actúa conjuntamente como tejido mecánico y de protección contra la pérdida hídrica, lo que sumado a una endodermis con suberina facilita el crecimiento en sitios con restringida disponibilidad de agua. Este tipo de cortezas se encuentran en especies xerófitas de los géneros *Argyrochosma*, *Astrolepis*, *Cheilanthes*, *Myriopteris*, *Mineirella*, *Notholaena* y *Pellaea*. Estas especies habitan en regiones montañosas Andinas, Sub-andinas y del Macizo de Brasilia en grietas en los roquedales y sobre paredes de piedra, algunas especies de *Cheilanthes*, como *C. arequipensis*, *C. pruinata*, *C. sarmientoi* y *C. squamosa* pueden crecer en mínimos intersticios en las rocas a gran altitud. Otras especies del género, como *C. glauca*, *C. hieronymi*, *C. micropteris*, *C. rufopunctata* y también *C. squamosa* se encuentran en altitudes medias en ambientes rocosos o pedregosos, semiáridos, con mayor disponibilidad de suelo intersticial.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

MAH y OGM realizaron los análisis morfo-anatómicos, las imágenes y descripciones de las raíces. MAS construyó la matriz de filogenia molecular, realizó el análisis de parsimonia y el mapeo de caracteres radiculares en el árbol obtenido. MMP realizó las revisiones taxonómicas y morfológicas. Todas las autoras participaron en la interpretación y discusión de los datos, tanto como en la preparación y redacción de la versión final del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los curadores de los herbarios: BHCB, CTES, CESJ, LIL, SI y SP, por facilitar los especímenes de estudio. También agradecemos a Fabiana Ríos por el procesamiento de muestras histológicas y a Lelia Bordón por la realización de las figuras, y a los revisores y editores por las sugerencias que beneficiaron este trabajo. Este trabajo fue financiado por la Fundación Miguel Lillo MH Proy B 030-1.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSEN, T. G., D. MOLINA, J. KILIAN, R. B. FRANKE, ... & N. GELDNER. 2021. Tissue-Autonomous Phenylpropanoid Production Is Essential for Establishment of Root Barriers. *Curr Biol* 31: 965-977. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.11.070>
- BRUNO, G., L. STIEFKENS, M. HADID, I. LISCOVSKY, ... & N. DOTTORI. 2007. Efecto de la contaminación ambiental en la anatomía de la hoja de *Ligustrum lucidum* (Oleaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42: 231-236. <https://doi.org/10.1086-337646>
- CHAPPLE, C. C. S. & R. L. PETERSON. 1987. Root Structure in the Fern *Platyserium bifurcatum* (Cav.) C. Chr. (Polypodiaceae). *Bot. Gaz.* 148: 180-187.
- D'AMBROGIO DE ARGÜESO, A. 1986. *Manual de técnicas en histología vegetal*. Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires.
- DAMUS, M., R. L. PETERSON, D. E. ENSTONE & C. A. PETERSON. 1997. Modification of cortical cell walls in roots of seedless vascular plants. *Bot. Acta* 110: 190-195. <https://doi.org/10.1111-j.1438-8677.1997.tb00628.x>

- DUBROVSKY, J. G. & S. SHISHKOVA. 2013. Developmental adaptations in roots of desert plants with special emphasis on Cacti. En: ESHEL, A. & T. BEECKMAN (eds.), *Plant Roots the Hidden Half*. 4th Ed., vol. 28: 1-13. CRC Press-Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- ENSTONE, D. E. & C. A. PETERSON. 2005. Suberin lamella development in maize seedling roots grown in aerated and stagnant conditions. *Plant Cell Environ.* 28: 444-455.
<https://doi.org/10.1111-j.1365-3040.2005.01286.x>
- ENSTONE, D. E. & C. A. PETERSON & F. MA. 2003. Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment. *J. Plant Growth Regul.* 21: 335-351.
<https://doi.org/10.1007-s00344-003-0002-2>
- FELSENSTEIN, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *Amer. Naturalist* 125: 1-15.
<https://doi.org/10.1086-284325>
- GELDNER, N. 2013. The Endodermis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64: 531-558. <https://doi.org/10.1146-annurev-arplant-050312-120050>
- GOLOBOFF, P., J. FARRIS & K. C. NIXON. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774-786.
<https://doi.org/10.1111-j.1096-0031.2008.00217.x>
- HERNÁNDEZ, M. A. & F. P. RODRÍGUEZ. 2010. Morfología y anatomía del esporofito de *Adiantopsis chlorophylla* (Pteridaceae). *Lilloa* 47: 85-94.
- HERNÁNDEZ, M. A., G. TERÁN. & P. L. ALBORNOZ. 2010. Morfología, anatomía y endomicorrizas en el esporofito de *Doryopteris concolor* (Pteridaceae). *Lilloa* 47: 74-84.
- HERNÁNDEZ, M. A., M. G. NÁZARO & M. E. ORQUEDA. 2011a. Morfología y anatomía del esporofito de *Cheilanthos pilosa* (Pteridaceae). *Lilloa* 48: 74-82.
- HERNÁNDEZ, M. A., O. VARELA, Y. E. FERNÁNDEZ & M. G. NADRA. 2011b. Caracterización morfológica y anatómica del esporofito de *Trachypteris pinnata* (Pteridaceae) en relación con la xeromorfia. *Lilloa* 48: 153-165.
- HERNÁNDEZ, M. A., L. TERÁN, M. MATA, O. G. MARTÍNEZ & J. PRADO. 2014. Helical Cell Wall Thickenings in Root Cortical Cells of Polypodiaceae Species from Northwestern Argentina. *Amer. Fern J.* 103: 225-240.
<https://doi.org/10.1640-0002-8444-103.4.225>
- HOSE, E., D. T. CLARKSON, E. STEUDLE, L. SCHREIBER & W. HARTUNG. 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier. *J. Exp. Bot.* 52: 2245-2264.
<https://doi.org/10.1093-jexbot-52.365.2245>
- HOU G., J. P. HILL, E. B. BLANCAFLOR. 2004. Developmental anatomy and auxin response of lateral root formation in *Ceratopteris richardii*. *J. Exp. Bot.* 55: 685-693.
- KENRICK, P. & P. R. CRANE. 1997. The origin and early evolution of plants on land. *Nature* 389: 33-39.
<https://doi.org/10.1038-37918>
- KETELAAR, T. & A. M. C. EMONS. 2009. The actin Cytoskeleton in Root Hairs: a cell elongation device. En: EMONS, A. M. C. & T. KETELAAR (eds.), *Root hairs*. Plant Cell Monographs Ed., vol. 12: 211-232. Springer, Berlin, Heidelberg.
https://doi.org/10.1007-978-3-540-79405-9_8
- LEROUX, O., A. BAGNIEWSKA-ZADWORNA, S. K. RAMBE, J. P. KNOX, ... & R. L. L. VIANE. 2011. Non-lignified helical cell wall thickenings in root cortical cells of Aspleniaceae (Polypodiales): histology and taxonomical significance. *Ann. Bot.* 107: 195-207. <https://doi.org/10.1093-aob-mcq225>
- LI, F. W., K. M. PRYER & M. D. WINDHAM. 2012. *Gaga*, a new fern Genus segregated from *Cheilanthos* (Pteridaceae). *Syst. Bot.* 7: 845-860.
<https://doi.org/10.1111-jse.12723>
- LINK-PÉREZ, M. A., L. E. WATSON & R. J. HICKEY. 2011. Redefinition of *Adiantopsis* Fée (Pteridaceae): Systematics, diversification, and biogeography. *Taxon* 60: 1255-1268.
- LÍŠKA, D., MARTINKA, M., KOHANAVA, J. & A. LUX. 2016. Asymmetrical development of root endodermis and exodermis to abiotic stresses. *Ann. Bot.* 118: 667-674.
<https://doi.org/10.1093-aob-mcw047>
- LUNA, M. L., M. A. GANEM, M. A. GROSSE & G. L. GIUDICE. 2020. Root anatomy of 37 species of *Asplenium* (Aspleniaceae) from Argentina: contributions to the systematics and phylogeny of the genus. *Flora* 272: 151706.
<https://doi.org/10.1016-j.flora.2020.151706>
- NEIRA, D. A., A. R. ANDRADA, V. DE LOS A. PÁEZ, A. M. RODRÍGUEZ, ... & M. A. HERNÁNDEZ. 2017. Anatomical, Histochemical and Cytogenetic Features of *Doryopteris triphylla* (Pteridaceae). *Am. J. Plant Sci.* 8: 907-920.
<https://doi.org/10.4236-ajps.2017.84061>
- OGURA, Y. 1972. *Comparative anatomy of vegetative organs of the Pteridophytes*. 2nd Ed. Gebruder Borntraeger, Berlin.

- PETERSON, C. A. & D. E. ENSTONE. 1996. Functions of passage cells in the endodermis and exodermis of roots. *Physiol. Plant.* 97: 592-598.
<https://doi.org/10.1034-j.1399-3054.1996.970323.x>
- PETERSON, R. L. 1992. Adaptations of root structure in relation to biotic and abiotic factors. *Can. J. Bot.* 70: 661-675. <https://doi.org/10.1139-b92-087>
- PONCE, M. M. & M. A. SCATAGLINI. 2018. Further progress towards the delimitation of *Cheilanthes* (Cheilanthesoideae, Pteridaceae), with emphasis on South American species. *Org. Divers. Evol.* 18: 175-186. <https://doi.org/10.1007-s13127-018-0366-6>
- PONCE, M. M. & M. A. SCATAGLINI. 2022. Phylogenetic position of South American *Cheilanthes* (Cheilanthesoideae, Pteridaceae): Advances in the generic circumscription and segregation of the new genus *Mineirella*. *J. Syst. Evol.* 60: 266-280.
<https://doi.org/10.1111-jse.12723>
- POOT, P., S. D. HOPPER & J. M. H. VAN DIGGELEN. 2012. Exploring rock fissures: does specialized root morphology explain endemism on granite outcrops? *Ann. Bot.* 110: 291-300.
<https://doi.org/10.1093-aob-mcr322>
- PRIESTLEY, J. H. & F. M. RADCLIFFE. 1924. A study of the endodermis in the Filicineae. *New Phytol.* 23: 161-193.
<https://doi.org/10.1111-j.1469-8137.1924.tb06632.x>
- SCHNEIDER, H. 1997. Root Anatomy in Aspleniaceae and the implications for systematic of this fern family. *Fern Gaz.* 15: 160-168.
- SCHNEIDER, H. 2000. Morphology and anatomy of roots in the filmy fern tribe Trichomaneeae H. Schneider (Hymenophyllaceae, Filicatae) and the evolution of rootless taxa. *Bot. J. Linn. Soc.* 132: 29-46.
<https://doi.org/10.1111-j.1095-8339.2000.tb01853.x>
- SCHNEIDER, H., K. M. PRYER, R. CRANFILL, A. R. SMITH & P. G. WOLF. 2002. Evolution of vascular plant body plans: a phylogenetic perspective. En: CRONK, Q. C. B., R. M. BATEMAN & J. A. HAWKINS (eds.), *Developmental Genetics and Plant Evolution*, vol. 13: 115-140. Taylor & Francis Inc., New York.
<http://dx.doi.org/10.1201-9781420024982.ch17>
- SCHREIBER, L., K. HARTMANN, M. SKRABS & J. ZEIER. 1999. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. *J. Exp. Bot.* 50: 1267-1280.
<https://doi.org/10.1093-jxb-50.337.1267>
- SCOTT, M. G. & R. L. PETERSON. 1979. The root endodermis in *Ranunculus acris*. I. Structure and ontogeny. *Canad. J. Bot.* 57: 1040-1062.
<https://doi.org/10.1139-b79-129>
- TERÁN, G. E., A. BENAVIDEZ & M. A. HERNÁNDEZ. 2009. Anatomía del esporofito de *Doryopteris lorentzii* (Hieron.) Diels (Pteridaceae). *Lilloa* 46: 147-154.
- WETZEL, M. L. R., L. DA 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>
- WHITE, P. J., T. S. GEORGE, P. J. GREGORY, A. GLYN BENGOUGH, ... & B. M. MCKENZIE. 2013. Viewpoint: part of a special issue on matching roots to their environment: Matching roots to their environment. *Ann. Bot.* 112: 207-222.
<https://doi.org/10.1093-aob-mct123>
- WINDHAM, M. D., L. HUIET, E. SCHUETTPELZ, A. L. GRUSZ, ... & K. M. PRYER. 2009. Using plastid and nuclear DNA sequences to redraw generic boundaries and demystify species complexes in cheilanthoid ferns. *Amer. Fern J.* 99: 128-132.
- YESILYURT, J. C., T. BARBARÁ, H. SCHNEIDER, S. RUSSELL, ... & M. GIBBY. 2015. Identifying the generic limits of the Cheilanthoid genus *Doryopteris*. *Phytotaxa* 221:101-122.



FITORREMEDIACIÓN CON *SALVINIA MINIMA* (SALVINIACEAE): IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES TEMPORALES DURANTE LA REMOCIÓN DE Cr(VI)

PHYTOREMEDIATION WITH *SALVINIA MINIMA* (SALVINIACEAE): IDENTIFICATION OF TEMPORAL BIOMARKERS DURING Cr(VI) REMOVAL

Noelia R. Taberero¹, Silvana Chocobar Ponce^{1,2}, Carolina Prado^{1,2} & Mariana Rosa^{*1,2}

1. Instituto de Bioprospección y Fisiología Vegetal (INBIOFIV, CONICET-UNT), San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

2. Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo (IML), San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

*rosamd@csnat.unt.edu.ar

Citar este artículo

TABERNERO, N. R., S. CHOCOBAR PONCE, C. PRADO & M. ROSA. 2024. Fitorremediación con *Salvinia minima* (Salviniaceae): identificación de biomarcadores temporales durante la remoción de Cr(VI). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 59: 433-447.

DOI: <https://doi.org/110.31055/1851.2372.v59.n3.44742>

Recibido: 12 Abr 2024
Aceptado: 7 Ago 2024
Publicado en línea: 30 Sep 2024
Publicado impreso: 30 Sep 2024
Editor: Federico Mollard

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: Heavy metals pollution, particularly by hexavalent chromium, is a topic of global concern due to its high toxicity and environmental persistence. Phytoremediation emerges as a nature-based economic technology for the recovery of environments contaminated by metals. In the case of water bodies, aquatic macrophytes such as *Salvinia minima* Baker are excellent candidates as remedial species. To optimize its use, it is important the identification of efficient and reliable biomarkers. The objective of this work was to carry out a temporal analysis of different biochemical parameters to identify both biomarkers of exposure to Cr(VI) and the most appropriate time for their analysis in *S. minima* plants under laboratory conditions.

M&M: Specimens of *S. minima* were cultured in the presence or absence of hexavalent chromium for seven days under controlled light and temperature conditions. Tissue and culture solution samples were taken at 0, 2, 4 and 7 days. The levels of H₂O₂, malondialdehyde, soluble and insoluble phenols and sucrose were quantified in floating pinnae and submerged rachis. Remaining Cr(VI) was determined in the treatment solution. All determinations were performed spectrophotometrically.

Results: The results allowed us to identify, among the selected parameters, early (malondialdehyde), medium-term (sucrose and insoluble phenols) and late (hydrogen peroxide) biomarkers.

Conclusions: The physiological implications of the observed variations are analyzed and discussed.

KEY WORDS

Biomarkers, heavy metals, remediation, *Salvinia*.

RESUMEN

Introducción y objetivo: La contaminación por metales pesados, y en particular por cromo hexavalente, es un tema de preocupación mundial debido a la alta toxicidad y persistencia ambiental que exhibe este metal. La fitorremediación surge como una tecnología económica para la recuperación de ambientes contaminados por metales. Las macrófitas acuáticas, como *Salvinia minima*, son excelentes candidatas como especies remediadoras de cuerpos de agua. Para optimizar su utilización es importante la identificación de biomarcadores eficientes y confiables. El objetivo del presente trabajo fue realizar un análisis temporal de distintos parámetros bioquímicos para identificar tanto biomarcadores a la exposición a Cr(VI) como el momento más apropiado para su análisis en plantas de *S. minima* bajo condiciones de laboratorio.

M&M: Se cultivaron ejemplares de *S. minima* en presencia y ausencia de cromo hexavalente, durante siete días, en condiciones controladas de luz y temperatura. Se tomaron muestras de tejidos y de la solución de cultivo a los 0, 2, 4 y 7 días. Se cuantificaron los niveles de H₂O₂, malondialdehído, fenoles solubles e insolubles y sacarosa, en pinnas flotantes y raquis sumergido. En la solución de tratamiento se determinó Cr(VI) remanente. Todas las determinaciones se realizaron espectrofotométricamente.

Resultados: Los resultados permitieron identificar, entre los parámetros seleccionados, biomarcadores tempranos (malondialdehído), de mediano plazo (sacarosa y fenoles insolubles) y tardíos (peróxido de hidrógeno).

Conclusiones: Se analizan y discuten las implicancias fisiológicas de las variaciones observadas.

PALABRAS CLAVES

Biomarcadores, metales pesados, remediación, *Salvinia*.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de cuerpos de agua por metales pesados es uno de los desafíos ambientales más grandes en todo el mundo (Huang *et al.*, 2014; Hama Aziz *et al.*, 2023). El rápido crecimiento de la población y el constante desarrollo industrial, han generado grandes cantidades de residuos con un alto contenido de metales pesados (Wang *et al.*, 2019; Karthik *et al.*, 2021). En particular, la descarga de aguas residuales sin tratamiento o derrames accidentales de estas sustancias, pueden resultar perjudiciales tanto para la biota como para la salud humana debido a que los metales pesados no se degradan y tienen la capacidad de bioacumularse y biomagnificarse a lo largo de las cadenas tróficas (Briffa *et al.*, 2020; Sharma *et al.*, 2020a; Velusamy *et al.*, 2022).

Entre los metales pesados, el cromo (Cr) es uno de los contaminantes más estudiados debido a su alta toxicidad y persistencia ambiental (Shanker *et al.*, 2005; Wakeel *et al.*, 2020). Si bien, se encuentra de forma natural y en pequeñas cantidades en el ambiente, su concentración ha ido incrementando debido a distintas actividades tales como la minería, la producción de acero, la fabricación de baterías, el curtido de cuero, la galvanoplastia y los procesos de cromado, entre otros (Wakeel *et al.*, 2020; Karthik *et al.*, 2021). El cromo existe en varios estados de oxidación, pero las formas más estables y comunes en las que se encuentra son: el cromo trivalente Cr(III) y el cromo hexavalente Cr(VI) (Bhalerao & Sharma, 2015), siendo esta última, la forma más tóxica, ya que presenta alto potencial oxidante, alta solubilidad y movilidad a través de las membranas celulares y en el ambiente (Huang *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2020a). En las plantas, uno de los efectos adversos de mayor relevancia es la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), ya que se trata de moléculas altamente reactivas, capaces de oxidar macromoléculas esenciales, tales como proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, etc. (Kumar *et al.*, 2019; Ahmad *et al.*, 2019). El estrés oxidativo prolongado provoca alteraciones en la integridad y la funcionalidad de las estructuras celulares que, en la mayoría de los casos, conducen a la muerte celular (Foyer & Noctor, 2005).

El impacto ambiental generado por los metales pesados ha llevado a la comunidad científica a desarrollar diferentes estrategias químicas o

físicoquímicas para el tratamiento de aguas residuales (precipitación, óxido-reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, etc.). Sin embargo, estos métodos resultan costosos e ineficientes, sobre todo cuando la concentración de metales es muy baja (Azubuike *et al.*, 2016). A esto, se suma la generación de lodos y desechos producidos durante los distintos procesos, dando lugar a un problema de contaminación secundario (Česonienė *et al.*, 2019). Por lo tanto, la gestión sostenible de ambientes contaminados con Cr requiere técnicas de remediación eficientes, sustentables y de bajo costo. En este sentido, se destaca el potencial de la fitorremediación como un sistema de tratamiento de ambientes contaminados basado en el uso de plantas para la remoción de contaminantes. Esta tecnología se caracteriza por ser económica, eficiente y respetuosa con el ambiente, por lo que se ha ido consolidando a lo largo del tiempo, mostrando resultados prometedores (Dixit *et al.*, 2015; Anand *et al.*, 2017; Awa & Hadibarata, 2020).

Las plantas utilizadas en fitorremediación deben seleccionarse en base a algunos criterios: (1) rápido crecimiento, (2) tolerancia a la exposición de contaminantes, (3) capacidad de absorber y acumular distintos tipos de contaminantes, aún si estos se encontraran en muy bajas concentraciones, (3) fácil cosecha y manipulación, (4) resistencia contra plagas y enfermedades y (5) potencial aplicación económica (Timalsina *et al.*, 2022). En base a estas premisas, las macrófitas acuáticas se consideran excelentes candidatas para la remediación de cuerpos de agua contaminados con metales pesados (Miretzky *et al.*, 2004; Espinoza-Quiñones *et al.*, 2008; González *et al.*, 2015; Rezanía *et al.*, 2016; Lewis & Thursby, 2018; Fletcher *et al.*, 2020). En este sentido, estudios llevados a cabo por diferentes investigadores postulan a varias especies del género *Salvinia* como hiperacumuladoras (Espinoza-Quiñones *et al.*, 2009; Llatance Oyarce *et al.*, 2019). En particular, *S. minima* es una especie con alta capacidad depuradora y potencial aplicación en sistemas de tratamiento de aguas contaminadas (Wilson & Al-Hamdani, 1997; Prado *et al.*, 2012, 2015; Chocobar Ponce *et al.*, 2019; Fletcher *et al.* 2020).

Por otra parte, los estudios de monitoreo ambiental precisan de herramientas o marcadores que revelen eficientemente la presencia y la biodisponibilidad de los contaminantes aún a bajas concentraciones. En este sentido, resultan útiles los denominados

bioindicadores y biomarcadores. Estos últimos son parámetros fisiológicos, morfológicos o bioquímicos, cuyos cambios observables y/o medibles revelan la exposición actual o pasada de un organismo a uno o más contaminantes (Melacon, 1995; Khan *et al.*, 2011). Los biomarcadores permiten evaluar de forma temprana los efectos negativos de los contaminantes (múltiples o específicos), aunque estos se encuentren a bajas concentraciones, y predecir las consecuencias de tal exposición (Lam & Gray, 2003; Lam, 2009).

En las últimas décadas, numerosos grupos de investigación han enfocado sus esfuerzos en el estudio de los efectos de los contaminantes sobre distintos organismos, a fin de seleccionar los parámetros más adecuados como biomarcadores. En el caso de las plantas, los principales parámetros utilizados son: peroxidación lipídica, variaciones en la relación clorofila/carotenoides, aumento de la concentración de compuestos fenólicos, ácido jasmónico, nicotinamida, compuestos tiólicos, sacarosa, fitoquelatinas y otros péptidos quelantes y aumento de la actividad o inhibición de enzimas antioxidantes (Ferrat *et al.*, 2003; Khan *et al.*, 2011). Si bien se han realizado numerosos estudios para identificar posibles biomarcadores, un aspecto importante que no ha recibido mucha atención es la variación temporal de esos parámetros. Los estudios temporales, además de proporcionar evidencia sobre la presencia de un contaminante o sus productos de degradación, también podrían brindar información sobre su concentración, la persistencia ambiental, los mecanismos de acción, la peligrosidad, entre otros. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue realizar un análisis temporal de distintos parámetros bioquímicos (H_2O_2 ; MDA; compuestos fenólicos solubles e insolubles y sacarosa) para identificar posibles biomarcadores tempranos de la presencia de Cr(VI) en plantas de *S. minima*, así como el momento más apropiado para su análisis en un plazo corto de tratamiento. La elección de los parámetros se basó en la sencillez y el bajo costo tanto de la extracción como de la cuantificación de los metabolitos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

Se colectaron ejemplares de *Salvinia minima* Baker de una laguna artificial ubicada en la

Reserva Experimental de Horco Molle, Tucumán ($26^{\circ} 47' 32''$ S, $65^{\circ} 18' 57''$ O). Este cuerpo de agua se encuentra aislado, es decir, que solo recibe el agua de lluvia y se usa para abastecer de agua de bebida a los animales de la Reserva. Una vez colectadas, las plantas fueron trasladadas al laboratorio de Fisiología Vegetal-UNT, donde se lavaron con abundante agua destilada para eliminar los restos de sedimentos adheridos a la superficie. Luego, se colocaron en recipientes con agua corriente y se mantuvieron por cinco días en condiciones de laboratorio para su aclimatación. Al cabo de este tiempo, se realizó el ensayo de la siguiente manera: se cultivaron cinco plantas de *S. minima* (aproximadamente 25 g de peso fresco) en bandejas plásticas de 200 ml de capacidad, con agua corriente para los controles y en presencia de 20 mg/L de $K_2Cr_2O_7$ para los tratamientos. Se eligió esta concentración ya que otros estudios informaron concentraciones frecuentes de alrededor de 20 mg/L de sales de cromo (cromato y dicromato) en aguas superficiales y subterráneas contaminadas (Vaiopoulou & Gikas, 2020). Este procedimiento se llevó a cabo bajo condiciones controladas de temperatura e iluminación (fotoperiodo 12/12, temperatura 24 ± 2 °C, 1054 lux), durante 7 días. La pérdida de agua por evapotranspiración se compensó diariamente agregando agua corriente hasta el volumen inicial. La elección de la duración del ensayo se realizó teniendo en cuenta dos aspectos: la cinética de la remoción de cromo y el tiempo de respuesta de la especie a la presencia del metal (Prado *et al.*, 2012).

Para la determinación de Cr remanente en la solución se tomaron muestras compuestas de la solución de tratamiento según el siguiente procedimiento: cada bandeja se dividió en cuatro cuadrantes. Del centro de cada cuadrante se tomó 1 ml de la solución. Los 4 ml así obtenidos fueron mezclados conformando una sola muestra por bandeja. Este ensayo se realizó por triplicado, es decir que se obtuvieron tres muestras compuestas por cada tratamiento. Para el análisis de los parámetros bioquímicos se tomaron muestras de los tejidos vegetales los días 0, 2, 4 y 7 del ensayo. Las muestras fueron enjuagadas con agua destilada y el remanente fue retirado levemente con papel absorbente. Luego, se separaron cuidadosamente en pinnas flotantes y raquis sumergidos y se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento.

Determinación de Cr(VI) en la solución de tratamiento

La determinación de Cr(VI) remanente en la solución de tratamiento se realizó siguiendo el método propuesto por Rüdél & Terytze (1999), el cual se basa en la reducción del Cr(VI) a Cr(III), con la consiguiente oxidación de la 1,5-difenilcarbazona (DFC) a 1,5-difenilcarbazona, la cual reacciona con el Cr(III) para dar un quelato de color violeta, cuya absorbancia se lee a 540 nm. La confiabilidad del método colorimétrico se verificó mediante una curva de calibración hecha a partir de una solución estándar de $K_2Cr_2O_7$ en el rango de concentración de 0,5 mg/L y 50 mg/L de Cr(VI) en presencia y ausencia de Cr(III).

Determinación del Contenido tisular de Cr total

Para cuantificar el contenido de cromo total, las plantas se lavaron con abundante agua destilada a fin de eliminar todo resto de solución de tratamiento y se colocaron sobre papel absorbente a fin de eliminar el exceso de agua. Luego de esto se separaron las plantas en pinnas flotantes y raquis sumergidos y se secaron en estufa a 80 °C hasta peso constante (~48 h). A continuación, se enfrió en desecador y se molieron en un mortero hasta obtener un polvo fino. Para la digestión, a una muestra de 100 mg PS de cada tejido se agregó una mezcla $HNO_3/HClO_4$ (3/1, v/v) y se calentó a 115 °C durante quince minutos según protocolo USEPA 3051 (www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3051.pdf). El contenido de cromo se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin-Elmer 373, Reino Unido). En los resultados la concentración tisular de cromo fue expresada en mg de Cr total/g PS. El Factor de Translocación se calculó dividiendo el contenido de cromo de las pinnas flotantes sobre el de los raquis sumergidos (Yadav *et al.*, 2009).

Extracción y cuantificación de malondialdehído (MDA)

La extracción y cuantificación de MDA se realizó siguiendo la técnica de Du & Bramlage (1992), con algunas modificaciones. Se homogeneizó 1 g de pinnas flotantes o de raquis sumergido con ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v). Los homogenatos se centrifugaron a 12000 rpm durante 15 min a 4 °C y los sobrenadantes

obtenidos se utilizaron para la cuantificación de MDA. A una alícuota del sobrenadante se le añadió ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (p/v) en TCA 20% (p/v). La mezcla resultante se calentó en agua hirviendo durante 25 min y luego se enfrió rápidamente en un baño de hielo. Finalmente, la mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min y se leyó la absorbancia a 440, 532 y 600 nm. La concentración de MDA se calculó utilizando un coeficiente de extinción molar de 155 mM/cm (a 532 nm para MDA) y se expresó como nmoles equivalentes de MDA por gramo de peso fresco (nmol Eq MDA/g PF).

Extracción y cuantificación del H_2O_2

La extracción de H_2O_2 se realizó en base a la técnica propuesta por Gniazdowska *et al.* (2010), con modificaciones menores. En primer lugar, se homogeneizaron muestras de 1 g de pinnas flotantes o de raquis sumergido con ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) en frío y luego se centrifugó a 10000 rpm durante 15 min a 4 °C. Al sobrenadante recuperado se le añadió buffer fosfato de sodio (pH 7) y Ioduro de potasio (KI) 10 mM (disuelto en buffer fosfato de sodio pH 7). La mezcla se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente y a continuación se leyó la absorbancia a 390 nm. La concentración de H_2O_2 se determinó utilizando una curva estándar realizada con una solución madre de H_2O_2 0,892 μ mol/ml y los resultados se expresaron como μ mol de H_2O_2 /g PF.

Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos solubles (FS) e insolubles (FI):

La extracción de FS se realizó según la técnica de Swain & Hillis (1959), con modificaciones menores. Se homogeneizó 1 g de pinnas flotantes o de raquis sumergido con etanol 96% (v/v). Luego, los homogenatos se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente, durante 48 h y posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 min. Los sobrenadantes recuperados se utilizaron para la cuantificación de FS. Para ello, al extracto se le agregó el reactivo de Folin-Ciocalteu (1:1 v/v) y agua destilada. Se incubó a temperatura ambiente durante 2 min y se agregó Na_2CO_3 7,5% (p/v). Se incubó nuevamente a temperatura ambiente durante 5 min y se leyó la absorbancia a 760 nm.

Para la obtención de FI, se realizaron algunas modificaciones a la técnica propuesta por Assabgui *et al.* (1993), a partir de la cual, los precipitados recuperados de la extracción de FS se secaron a 40 °C durante 48 h y se hidrolizaron con NaOH 0,5 M (p/v) en un baño de agua hirviendo durante 60 min. Luego, las muestras se enfriaron y se acidificaron con HCl 5 N (p/v) hasta pH 2. Posteriormente, se centrifugaron durante 10 min y al sobrenadante extraído, se le agregó acetona. Las muestras se homogeneizaron y se extrajeron las alícuotas. Los FI se determinaron utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu como se describió anteriormente. Las concentraciones de FS y FI se determinaron utilizando una curva estándar elaborada con una solución madre de fenol y se expresaron como mg equivalentes de fenol por gramo de peso fresco (mg Eq. fenol/g PF).

Extracción y cuantificación de sacarosa

Para cuantificar el contenido de sacarosa, se homogeneizó 1 g de pinnas flotantes o raquis sumergido con etanol 80% (v/v). El homogenato se calentó en un baño de agua a 80 °C durante 10 min y se centrifugó a 5000 rpm durante 10 min. Se separó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en etanol 80% (v/v) y se centrifugó nuevamente. Este paso se repitió tres veces. Los sobrenadantes se reunieron y se secaron bajo una corriente de aire caliente. El residuo resultante se resuspendió en agua destilada. Una alícuota de este extracto se utilizó para cuantificar el contenido de sacarosa mediante el protocolo de Cardini *et al.* (1955) y los resultados se expresaron como mg sacarosa/g PF.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental consistió en tres ensayos independientes y consecutivos. Cada ensayo contó con tres réplicas por cada tratamiento (0 y 20 mg/L de $K_2Cr_2O_7$). Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se aplicó la prueba estadística (ANOVA de dos vías). Cuando se obtuvieron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para un nivel de significancia del 5% ($P < 0,05$). La prueba estadística (ANOVA) y el análisis de normalidad se llevaron a cabo utilizando el software SigmaPlot 12.5 con nivel de significancia de 0,05.

RESULTADOS

Cr(VI) remanente en la solución de tratamiento y contenido de Cr total en tejidos

El perfil temporal del contenido de Cr(VI) remanente en la solución de tratamiento se muestra en la Fig. 1. Se observó una rápida disminución del contenido del metal al día 2 del tratamiento. A partir de ese momento, el contenido de Cr(VI) remanente continuó disminuyendo, pero en forma menos pronunciada, llegando al día 7 con un 25% del contenido inicial de Cr(VI).

En cuanto al contenido tisular de Cr, se observó una progresiva acumulación del metal que mostró un nivel máximo en el día 7, donde ambos órganos mostraron cantidades similares de Cr. En el día 2 y día 4 se observó una mayor acumulación de Cr en el raquis sumergido (Tabla 1).

Parámetros bioquímicos

Con respecto a los parámetros bioquímicos, se observaron diferencias entre sus perfiles temporales y entre los órganos analizados. El contenido de MDA fue ligeramente menor en los raquis sumergidos que en pinnas flotantes (Fig. 2). En ambos órganos los valores de MDA

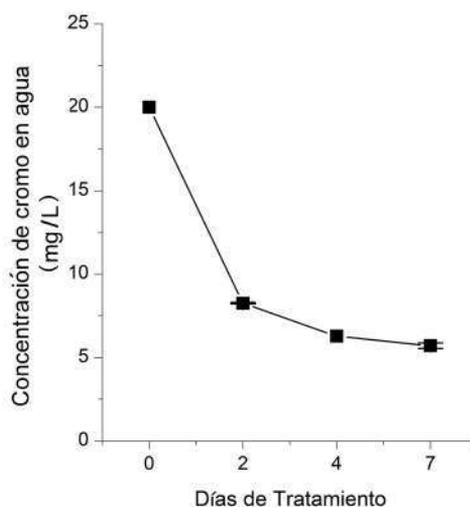


Fig. 1. Variación temporal del contenido de Cr(VI) remanente en la solución de tratamiento. Los valores mostrados corresponden al promedio \pm DS ($n=3$).

Tabla 1. Contenido de cromo total en órganos de *Salvinia minima* (mg/g PS). Las plantas fueron cultivadas durante siete días en una solución de dicromato de potasio 20 mg/L. Los valores mostrados corresponden al promedio \pm DS. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre los días de tratamiento para el mismo órgano. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre órganos para cada día.

	Día 2	Día 4	Día 7
Pinna flotante	0,15 \pm 0.01Aa	0,39 \pm 0.04Ba	1,30 \pm 0.12Cc
Raquis sumergido	0,43 \pm 0.05Ab	0,56 \pm 0.07Ab	1,12 \pm 0.11Bc
Factor de translocación	0.34	0.69	1.08

aumentaron significativamente a partir del día 2. En las pinnas flotantes expuestas a Cr(VI) se observó un pico de acumulación el mismo día, con un 32% de incremento, y a partir de allí, una disminución a valores similares a los de sus respectivos controles (Fig. 2A). En el caso de los

raquis sumergidos, se observó un patrón similar, pero la diferencia observada en el día 2 entre los raquis sumergidos controles y los expuestos al metal, alcanzó solo un 18% de incremento (Fig. 2B).

El contenido de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), por su parte, fue mayor en pinnas flotantes que en el raquis sumergido, tanto en las plantas expuestas al Cr(VI) como en aquellas que no estuvieron en contacto con el metal (Fig. 3). Sin embargo, se observó un patrón diferente entre ambos tipos de hojas. Las pinnas flotantes, independientemente del tratamiento, mostraron un aumento progresivo del contenido de H₂O₂ hasta el día 4. A partir de allí, sólo se observó un aumento significativo en presencia de Cr(VI) (Fig. 3A). En el raquis sumergido, se observó un patrón opuesto en las plantas no expuestas al Cr(VI), con una disminución progresiva en el contenido de H₂O₂ a lo largo del ensayo y, solo al día 2, se observó un mayor contenido de peróxido, el cual no presentó diferencia significativa en relación al día 0 (Fig. 3B).

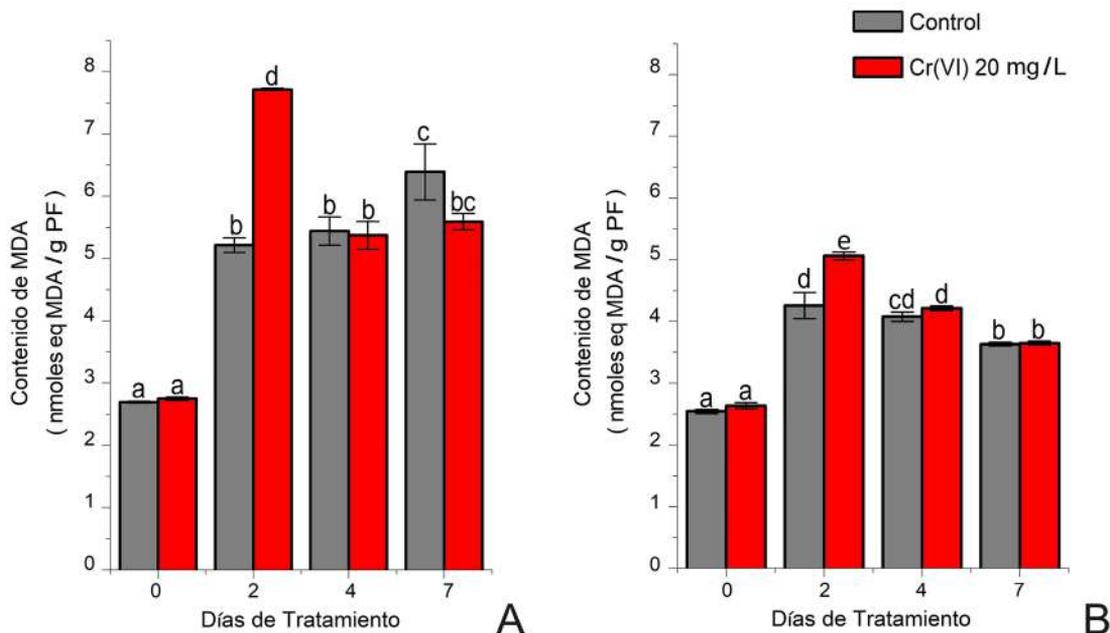


Fig. 2. Variación del contenido de malondialdehído (MDA) en plantas de *Salvinia minima*. **A:** pinnas flotantes. **B:** raquis sumergido. Las plantas fueron expuestas a Cr(VI) durante 7 días. Los valores mostrados corresponden al promedio \pm DS (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (P < 0,05), (n = 3).

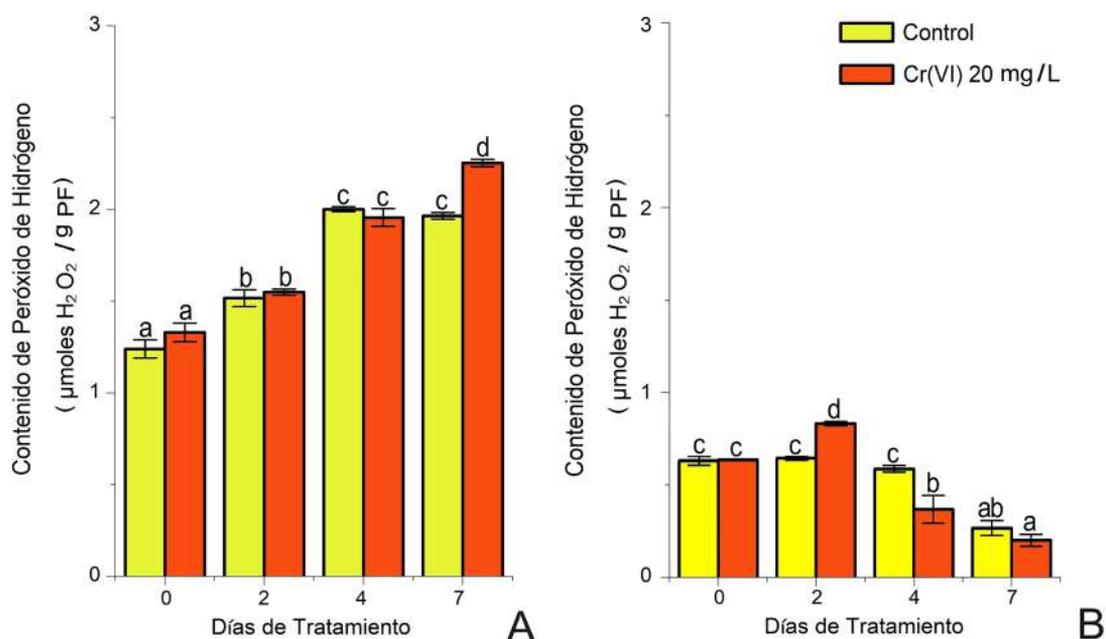


Fig. 3. Variación del contenido de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en plantas de *Salvinia minima*. **A:** pinnas flotantes. **B:** raquis sumergido. Las plantas fueron expuestas a Cr(VI) durante 7 días. Los valores mostrados corresponden al promedio ± DS (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (P < 0,05), (n = 3).

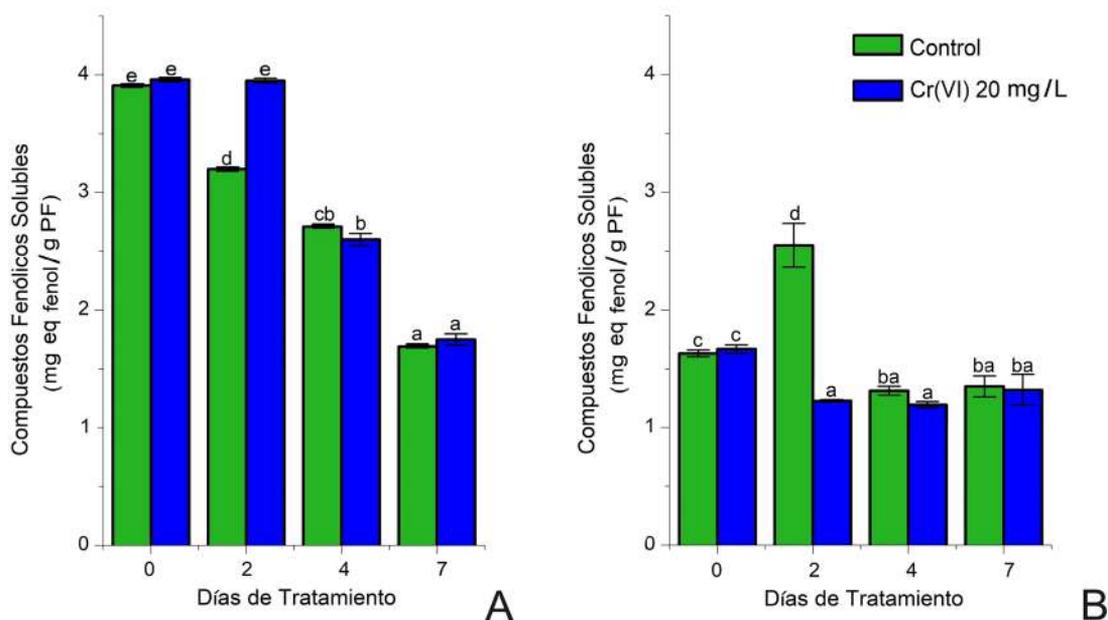


Fig. 4. Variación del contenido de fenoles solubles en plantas *Salvinia minima*. **A:** pinnas flotantes. **B:** raquis sumergido. Las plantas fueron expuestas a Cr(VI) durante 7 días. Los valores mostrados corresponden al promedio ± DS (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (P < 0,05), (n = 3).

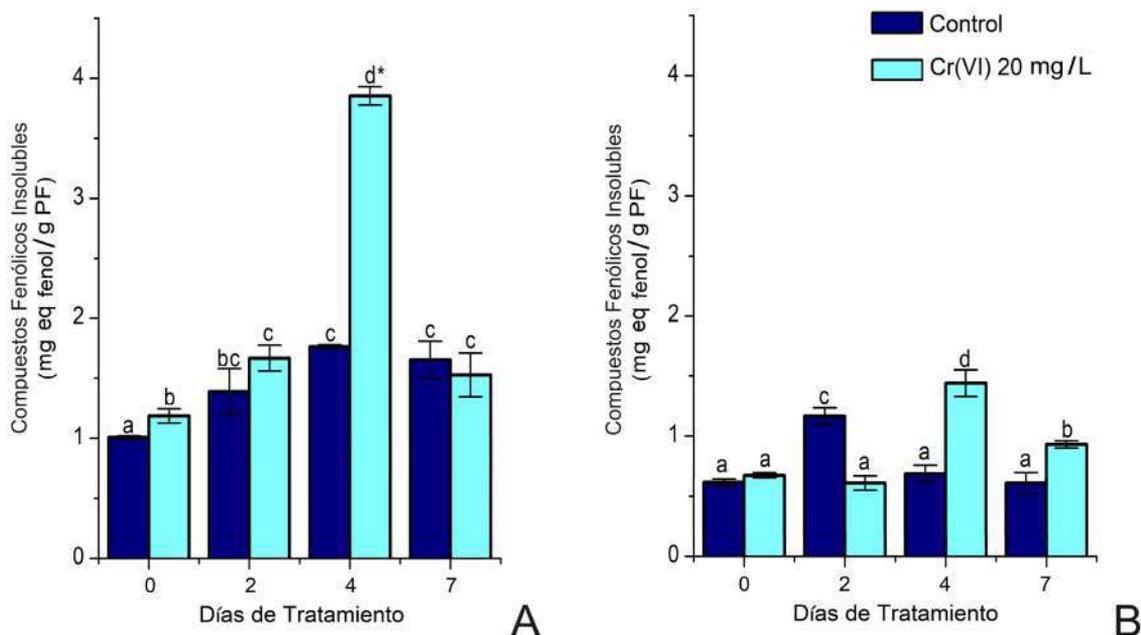


Fig. 5. Variación del contenido de fenoles insolubles en plantas de *Salvinia minima* **A:** pinnas flotantes. **B:** raquis sumergido. Las plantas fueron expuestas a Cr(VI) durante 7 días. Los valores mostrados corresponden al promedio \pm DS (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (P < 0,05), (n = 3).

Con respecto a los compuestos fenólicos (FS), en general, las pinnas flotantes presentaron mayores contenidos que en el raquis sumergido (Fig. 4 y 5). Los FS mostraron una disminución progresiva en las pinnas flotantes de plantas no expuestas al Cr(VI), mientras que la presencia del metal solo retrasó por 2 días dicha caída (Fig. 4A). En el raquis sumergido se observó un comportamiento diferente, ya que la presencia de Cr(VI) produjo una disminución inicial del contenido de FS pero, a partir de allí, los valores fueron similares a los determinados para los respectivos controles, excepto para el día 2, en el cual se observó un llamativo incremento de FS en raquis sumergidos no expuestos al metal.

Los compuestos fenólicos insolubles (FI), por su parte, mostraron un marcado aumento de su contenido, solo en el día 4, en pinnas flotantes expuestas al Cr(VI), presentando un incremento del 110% comparado con su respectivo control y del 120% comparado con el día 0 (Fig. 5A). En raquis sumergidos, se

observó un pico de acumulación en el día 2 en plantas no expuestas al metal, que mostró un retraso de dos días en presencia de Cr(VI) (Fig. 5B). En este caso, el aumento en los niveles de FI fue de un 100% comparado con su respectivo control y con el día 0.

Por último, los niveles de sacarosa, en general, fueron menores en raquis sumergidos que en pinnas flotantes (Fig. 6). Los resultados obtenidos en pinnas flotantes de plantas expuestas a Cr(VI) mostraron un incremento progresivo del contenido de sacarosa hasta el día 4 (100% con respecto al día 0 y 150% con respecto a su respectivo control) (Fig. 6A). Con respecto a los raquis sumergidos, recién en el día 4 y en el día 7 se observaron diferencias significativas en el contenido de sacarosa entre las plantas expuestas y no expuestas al Cr(VI). La presencia del metal produjo un incremento del 70% en el contenido de sacarosa en raquis sumergidos, comparados con su respectivo control y con el día 0 (Fig. 6B).

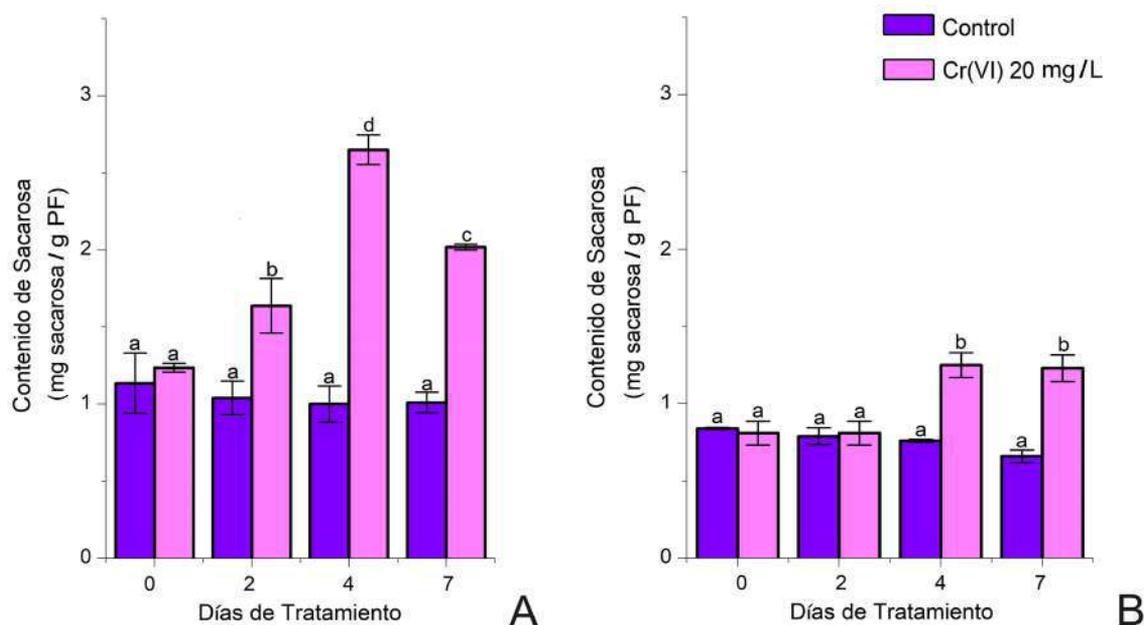


Fig. 6. Variación del contenido de sacarosa en plantas de *Salvinia minima*. **A:** pinnas flotantes. **B:** raquis sumergido. Las plantas fueron expuestas a Cr(VI) durante 7 días. Los valores mostrados corresponden al promedio \pm DS (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (P < 0,05), (n = 3).

DISCUSIÓN

Una vez que los metales pesados, como el cromo, ingresan a la planta, se desencadenan distintos mecanismos de tolerancia y/o defensa, mediante los cuales la planta puede hacer frente a la toxicidad que genera el metal incorporado (Prado *et al.*, 2012; Rosa *et al.*, 2017). Esta serie de respuestas metabólicas y fisiológicas pueden ser usadas como biomarcadores. Este concepto fue introducido por Lagadic *et al.* (1994) para referirse a “cambios observables y/o medibles a nivel molecular, bioquímico, celular, fisiológico o de comportamiento, que revelan la exposición actual o pasada de un individuo al menos a un contaminante”. Los biomarcadores representan la respuesta biológica inicial de organismos como las plantas a las perturbaciones o la contaminación en su entorno. Teniendo en cuenta las características de *S. minima* y numerosos estudios que han demostrado su carácter de especie hiperacumuladora (Olguín *et al.*, 2002; Sánchez-Galván *et al.*, 2008; Prado *et*

al., 2012; Dhir, 2013; Chocobar Ponce *et al.*, 2014; Fuentes *et al.*, 2014), se procedió a la evaluación del perfil temporal de remoción de Cr(VI) bajo condiciones de laboratorio, a fin de precisar la cinética del proceso. Los resultados indicaron una disminución significativa del contenido del metal entre los días 2 y 4 del ensayo (Fig. 1), lo cual coincidió con la acumulación de Cr en el raquis sumergido. A partir del cuarto día, el nivel de Cr(VI) en el agua se mantuvo relativamente constante, mientras que, en los tejidos se observó un incremento al día 7. Esto sugirió que bajo nuestras condiciones experimentales hubo translocación desde el raquis sumergido hacia las pinnas flotantes, lo cual se confirmó al calcular el factor de translocación que para el día 7 dió un valor superior a 1. Los valores mostrados en este trabajo resultaron similares a estudios realizados en *S. minima* y otras especies del género (Espinoza-Quiñones *et al.*, 2008; Dhir *et al.*, 2009; Prado *et al.*, 2012; Chocobar Ponce *et al.*, 2019; Parida *et al.*, 2020), e incluso resultaron superiores a los reportados para otras plantas y/o

microorganismos usados en remediación (Olguín *et al.*, 2007; Espinoza-Quñones *et al.*, 2008). Analizando en conjunto este perfil temporal del Cr(VI) remanente en la solución de tratamiento y el contenido tisular de Cr total nos permitió establecer que la mayor parte de la remoción de Cr(VI) ocurre tempranamente y que la duración del ensayo (7 días) era la adecuada para la búsqueda de biomarcadores tempranos en un ensayo de corto plazo. En este sentido, el MDA sería el parámetro de elección para ser evaluado de forma temprana, ya que mostró un pico de acumulación en el día 2, tanto en pinnas flotantes como en raquis sumergidos, con diferencias muy marcadas con respecto al día 0. Para evaluaciones posteriores, se podría sugerir la cuantificación del contenido de compuestos fenólicos insolubles y sacarosa como parámetros relevantes, ya que mostraron picos de acumulación al día 4, en ambos tipos de hoja (Figs. 5, 6). Asimismo, en el día 4 se observó una disminución marcada de los compuestos FS (Fig. 4), por lo que este parámetro, también podría ser considerado como un biomarcador. Por último, para evaluaciones posteriores a los 4-5 días de exposición, el parámetro de elección podría ser el contenido de H_2O_2 en pinnas flotantes, ya que mostró su valor máximo hacia el final del ensayo (Fig. 3).

En cuanto a las implicancias fisiológicas de los resultados obtenidos, es importante resaltar que si bien, pinnas flotantes y raquis sumergidos constituyen un mismo tipo de órgano, el patrón de acumulación de cromo en los tejidos como así también su partición entre órganos mostraron distintos perfiles (Tabla 1). En este sentido, también se evidenciaron diferencias funcionales, metabólicas y de respuesta ante la exposición al cromo; ya que las variaciones de los parámetros bioquímicos analizados no siguieron una relación directa con la concentración del Cr tisular.

La presencia de metales pesados perturba el balance celular entre la generación y eliminación de las ERO. Esto puede desencadenar la peroxidación lipídica, con la consiguiente acumulación de malondialdehído (MDA) en los tejidos de las plantas (González *et al.*, 2014; Fryzova *et al.*, 2018). En base a esto, se ha utilizado este parámetro en varios trabajos como indicador del daño causado por estrés oxidativo en plantas expuestas a metales pesados (Rahman *et al.*, 2010; Prado *et al.*, 2013;

Adrees *et al.*, 2015). En el presente estudio, se observó una señal temprana de daño oxidativo evidenciada en los altos niveles de MDA. Esta señal podría ser interpretada como una fase de alarma que podría desencadenar mecanismos de tolerancia como los observados al día 4, con el aumento en la síntesis de compuestos fenólicos de reconocida actividad antioxidante (Chen *et al.*, 2020) y la acumulación de sacarosa como molécula señal (Rosa *et al.*, 2009) y fuente de esqueleto carbonado para la síntesis de otros compuestos de protección.

En lo referente al efecto del Cr(VI) sobre el contenido de compuestos FS y FI, Chocobar Ponce *et al.* (2014, 2019) y Prado *et al.* (2013), determinaron que en dos especies de *Salvinia*, ambas clases de compuestos resultan afectadas ante la presencia del metal. Teniendo en cuenta su eficiente capacidad antioxidante frente el estrés oxidativo inducido por metales pesados (Urquiaga & Leighton, 2000; Psotová *et al.*, 2003), los elevados niveles de FI en el día 4 y de FS en el día 2, se pueden interpretar como un mecanismo de defensa frente daño oxidativo debido a la presencia de Cr(VI). Por otra parte, se observaron patrones inversos de acumulación, lo que podría indicar fenómenos de polimerización o despolimerización inducidos por el Cr(VI), según los requerimientos de la planta. Así, durante los primeros días de exposición al metal se vería incrementada la síntesis de ácidos fenólicos u otro tipo de compuesto fenólico soluble y, más adelante, éstos podrían ser dirigidos hacia la síntesis de FI, con un pico de acumulación en el día 4 (Fig. 5). Esto podría estar relacionado con una mayor síntesis de lignina, la cual puede conferir mayor resistencia a las paredes celulares y además puede reaccionar con diversos metales a través de sus múltiples grupos funcionales, disminuyendo la cantidad de metal que puede entrar al interior de la célula (Cabane *et al.*, 2012; Riaz *et al.*, 2023). Por otra parte, los compuestos fenólicos también pueden participar indirectamente en la eliminación de ERO, al acoplarse a una actividad de peroxidasa soluble. Es decir que, en ciertas plantas la acumulación de metales pesados induce a la formación de derivados polifenólicos solubles que se acumulan en las vacuolas y actúan como antioxidantes, contribuyendo a la eliminación de los radicales libres que tienden a generar estrés oxidativo (Yamasaki *et al.*, 1997). Estas respuestas sugieren que el contenido de compuestos fenólicos

sería un buen biomarcador para ser utilizado en la evaluación del estado fisiológico de *S. minima* durante su exposición a Cr(VI). Debido a su actividad como moléculas antioxidantes y/o quelantes, su acumulación (sobre todo el día 4), podría constituir un mecanismo de tolerancia del que dispondría esta planta para crecer en ambientes contaminados. Es decir, que la presencia de una variación (aumento/disminución) en sus niveles, sería indicativo de una exposición mayor a tres días.

La relación entre el desequilibrio en el estado celular redox y la fitotoxicidad por metales/metaloides se ha estudiado ampliamente y existen varias revisiones del tema que muestran aumento de ERO (Gratão *et al.*, 2005; Sharma & Dietz, 2008; Mench *et al.*, 2009). Sin embargo, se reportó que cierto nivel de acumulación de ERO, en particular H₂O₂, es necesario para que se disparen los mecanismos de defensa frente a diversas condiciones de estrés (Mithöfer *et al.*, 2004; Foyer & Noctor, 2005; Manara, 2012). En este sentido, se evidenciaron incrementos de los niveles de H₂O₂ en numerosas especies, en respuesta a la presencia de diferentes metales pesados (Cho & Park, 2000; Prado *et al.*, 2013; Chocobar Ponce *et al.*, 2019). De manera similar, nuestros resultados evidenciaron un incremento en la concentración de H₂O₂ en pinnas flotantes expuestas a Cr(VI) (Fig. 3). El mayor contenido se registró en el último día del tratamiento coincidiendo con la mayor acumulación tisular de Cr, por lo que parecería estar más relacionado con un desbalance redox que con una señal.

Según lo reportado por varios autores, la acumulación de Cr(VI) incrementa los niveles de azúcares solubles, almidón y carbohidratos no estructurales (Chocobar Ponce *et al.*, 2019). De acuerdo con esto, nuestros resultados mostraron un aumento en la concentración de sacarosa en presencia del metal en pinnas flotantes y más tardíamente en el raquis sumergido (Fig. 6). Resultados similares se observaron en *Azolla caroliniana* Lam., un helecho acuático cercano a *S. minima*, creciendo en presencia de cromo (Wilson & Al-Hamdani, 1997) y para la propia *S. minima* expuesta a Al (Gardner & Al-Hamdani, 1997). En condiciones normales, la sacarosa sintetizada se transloca a tejidos en crecimiento, donde es hidrolizada por las enzimas invertasa o sacarosa sintasa para producir hexosas las cuales se canalizan hacia el ciclo glucolítico y la vía de las pentosas

fosfato (Devi & Biswas, 2007). Sin embargo, en condiciones de estrés, la síntesis y acumulación de sacarosa podría actuar como sumidero efectivo del exceso de ATP producido por la vía del citocromo (CP), a través de la vía respiratoria alternativa (Solomos & Laties, 1975; Prado *et al.*, 2013). Esta flexibilidad metabólica sería beneficiosa para *S. minima*, ya que le permitiría contar con una reserva de esqueleto carbonado disponible para una mayor síntesis de compuestos protectores o para retomar el crecimiento post-estrés.

CONCLUSIONES

Los resultados aquí presentados demuestran la factibilidad del uso de cuatro parámetros fisiológicos como biomarcadores tempranos de exposición a Cr(VI). Los parámetros seleccionados son fácilmente medibles mediante técnicas espectrofotométricas sencillas y aportan información sobre el estado fisiológico de la planta. Tener un panorama completo de éste es muy importante para la determinación del momento más adecuado para el recambio de plantas durante un proceso de fitorremediación. Los resultados aquí presentados forman parte de estudios tendientes a la caracterización, la optimización y la estandarización del uso de *S. minima* en sistemas de remediación ambiental y aportan herramientas valiosas para el monitoreo de ambientes acuáticos usando técnicas sencillas y económicamente viables.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

NRT realizó la investigación, el análisis formal y visualización de los datos y participó en la redacción, edición y revisión del manuscrito. SCP supervisó los ensayos, colaboró con el análisis formal de los datos y participó en la revisión del manuscrito. CP participó en la conceptualización y supervisión de los ensayos, participó del análisis de los resultados y participó en la redacción, edición y revisión del manuscrito. MR participó en la conceptualización de los ensayos, participó del análisis de los resultados y en la redacción, edición y revisión del manuscrito. Es la titular de los financiamientos que solventaron la investigación.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras del trabajo agradecen el financiamiento otorgado por la Secretaría de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica de la Universidad Nacional de Tucumán (SCAIT - UNT): PIUNT 26G/628.

DATOS DE INVESTIGACIÓN

Los datos que respaldan este estudio están disponibles en el artículo.

BIBLIOGRAFÍA

- ADREES, M., S. ALI, M. IQBAL, S. A. BHARWANA, ... & M. RIZWAN. 2015. Mannitol alleviates chromium toxicity in wheat plants in relation to growth, yield, stimulation of anti-oxidative enzymes, oxidative stress and Cr uptake in sand and soil media. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 122: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.07.003>
- AHMAD, P., D. K. TRIPATHI, R. DESHMUKH, V. P. SINGH & F. J. CORPAS. 2019. Revisiting the role of ROS and RNS in plants under changing environment. *Environ. Exp. Bot.* 161: 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.017>
- ANAND, S., S. K. BHARTI, N. DVIWEDI, S. C. BARMAN & N. KUMAR. 2017. Macrophytes for the reclamation of degraded waterbodies with potential for bioenergy production. En: KULDEEP, B., B. SINGH & J. KORSTAD (eds.), *Phytoremediation Potential of Bioenergy Plants*, pp. 333-351. Springer, Singapore.
- ASSABGUI, R. A., L. M. REID, R. I. HAMILTON & T. ARNASON. 1993. Correlation of kernel (E)-ferulic acid content of maize with resistance to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology* 83: 949-953.
- AWA, S. H. & T. HADIBARATA. 2020. Removal of heavy metals in contaminated soil by phytoremediation mechanism: a review. *Water Air Soil Pollut.* 231: 47. <http://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>
- AZUBUIKE, C. C., C. B. CHIKERE & G. C. OKPOKWASILI. 2016. Bioremediation techniques classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 11: 180. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>
- BHALERAO, S. & A. SHARMA. 2015. Chromium: As an Environmental Pollutant. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 4: 732-746.
- BRIFFA, J., E. SINAGRA & R. BLUNDELL. 2020. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon* 6: e04691. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
- CABANE, M., D. AFIF & S. HAWKINS. 2012. Lignins and abiotic stresses. *Adv. Bot. Res.* 61: 219-262. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416023-1.00007-0>
- CARDINI, C., L. F. LELOIR & J. CHIRIBOGA. 1955. The biosynthesis of sucrose. *J. Biol. Chem.* 214: 149-155. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)70953-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)70953-8)
- ČESONIENĖ, L., E. MAŽUOLYTĖ-MIŠKINĖ, D. ŠILEIKIENĖ, K. LINGYTĖ & E. BARTKEVIČIUS. 2019. Analysis of biogenic secondary pollution materials from sludge in surface Waters. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 16: 4691. <https://doi.org/10.3390/ijerph16234691>
- CHEN, S., R. LIN, H. LU, Q. WANG, ... & C. YAN. 2020. Effects of phenolic acids on free radical scavenging and heavy metal bioavailability in *Kandelia obovata* under cadmium and zinc stress. *Chemosphere* 249: 126-341. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126341>
- CHO, U. & J. PARK. 2000. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Sci.* 156: 1-9. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(00\)00227-2](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(00)00227-2)
- CHOCOBAR PONCE, S., C. PRADO, E. PAGANO, F. E. PRADO & M. ROSA. 2014. Effect of solution pH on the dynamic of biosorption of Cr(VI) by living plants of *Salvinia minima*. *Ecol. Eng.* 74: 33-41. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.09.117>
- CHOCOBAR PONCE, S., C. PRADO, E. PAGANO, F. E. PRADO & M. ROSA. 2019. Effect of pH on Cr(III) accumulation, biomass production and phenolic profile in two *Salvinia* species. *Environ. Toxicol. Chem.* 38: 167-176. <https://doi.org/10.1002/etc.4296>
- DEVI, S. S. & A. R. BISWAS. 2007. Heavy metal status and oxidative stress in diesel engine tuning workers of the central Indian population. *J. Occup. Environ. Med.* 49: 1228-1234. <https://doi.org/10.1097/JOM.0b013e3181565d29>
- DHIR, B. 2013. *Phytoremediation: Role of Aquatic Plants in Environmental Clean-Up*. Springer, India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1307-9_2
- DHIR, B., P. SHARMILA, P. P. SARADHI & A. A. NASIM. 2009. Physiological and antioxidant responses of *Salvinia natans* exposed to chromium-rich wastewater. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 72: 1790-1797. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.03.015>

- DIXIT, R., E. WASIULLAH, D. MALAVIYA, K. PANDIYAN, ... & D. PAUL. 2015. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental process. *Sustainability* 7: 2189-2212. <https://doi.org/10.3390/su7022189>
- DU, D. W. & J. BRAMLAGE. 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *J. Agr. Food Chem.* 40: 1566-1570.
- ESPINOZA-QUIÑONES, F. R., A. N. MÓDENES, L. P. THOMÉ, S. M. PALÁCIO ... & N. SZYMANSKI. 2009. Study of the bioaccumulation kinetic of lead by living aquatic macrophyte *Salvinia auriculata*. *Chem. Eng. J.* 150: 316-322. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.01.004>
- ESPINOZA-QUIÑONES, F. R., E. A. DA SILVA, M. DE ALMEIDA RIZZUTTO, S. M. PALÁCIO, ... & A. D. KROUMOV. 2008. Chromium ions phytoaccumulation by three floating aquatic macrophytes from a nutrient medium. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 3063-3070. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9853-9>
- FERRAT, L., C. PERGENT-MARTINI & M. ROMÉO. 2003. Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality: application to seagrasses. *Aquat. Toxicol.* 2: 187-204. [https://doi.org/10.1016/s0166-445x\(03\)00133-4](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(03)00133-4)
- FLETCHER, J., N. WILLBY, D. M. OLIVER & R. S. QUILLIAM. 2020. Phytoremediation using aquatic plants. En: SHMAEFKY, B. R. (ed.), *Phytoremediation. In situ application*, pp. 205-260. Springer, Cham.
- FOYER, C. H. & G. NOCTOR. 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environ.* 28: 1056-1071. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01327.x>
- FRYZOVA, R., M. POHANKA, P. MARTINKOVA, H. CIHLAROVA, ... & J. KYNICKY. 2018. Oxidative stress and heavy metals in plants. En: DE VOOGT, P. (ed.), *Reviews of environmental contamination and toxicology*, pp. 129-156. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/398_2017_7
- FUENTES, I. I., F. ESPADAS GIL, M. C. TALAVERA, G. FUENTES & J. M. SANTAMARÍA. 2014. Capacity of the aquatic fern (*Salvinia minima* Baker) of accumulating high concentrations of nickel in its tissues, and its effects on plant physiological processes. *Aquat. Toxicol.* 155: 142-150. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00138-3](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00138-3)
- GARDNER, J. & S. AL-HAMDANI. 1997. Interactive effects of aluminum and humic substances on *Salvinia*. *J. Aquat. Plant Manag.* 35: 30-34.
- GNIĄZDOWSKA, A., U. KRASUSKA, K. CZAJKOWSKA & R. BOGATEK. 2010. Nitric oxide, hydrogen cyanide and ethylene are required in the control of germination and undisturbed development of young apple seedlings. *J. Plant Growth Regul.* 61: 75-84.
- GONZALEZ, C. I., M. A. MAINE, J. CAZENAVE, G. C. SANCHEZ & M. P. BENAVIDES. 2015. Physiological and biochemical responses of *Eichhornia crassipes* exposed to Cr (III). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 3739-3747. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3558-4>
- GRATÃO, P. L., M. N. V. PRASAD, P. F. CARDOSO, P. J. LEA & R. A. AZEVEDO. 2005. Phytoremediation: green technology for the clean-up of toxic metals in the environment. *Braz. J. Plant Physiol.* 17: 53-64. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100005>
- HAMA AZIZ, K. H., F. S. MUSTAFA, K. M. OMER, S. HAMA ... & K. O. RAHMAN. 2023. Heavy metal pollution in the aquatic environment: efficient and low-cost removal approaches to eliminate their toxicity: a review. *RSC Adv.* 13: 17595-17610. <https://doi.org/10.1039/D3RA00723E>
- HUANG, Z., X. D. PAN, P. G. WU, J. L. HAN & Q. CHEN. 2014. Heavy metals in vegetables and the health risk to the population in Zhejiang, China. *Food Control* 1: 248-252. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.036>
- KHAN, M. A., M. RAM, P. JHA, M. M. AHMAD, ... & M. Z. ABDIN. 2011. Screening and detection of biomarkers in chickpea plants exposed to chromium and cadmium. *J. Environ. Biol.* 32:51-55.
- KARTHIK, V., S. PERIYASAMY, I. J. BEULA & T. TEMESGEN. 2021. Restoration of contaminated agricultural soils. En: THAPAR KAPOOR, R., H. TREICHEL & M. P. SHAH (eds.), *Biochar and its Application in Bioremediation*, pp. 381-401. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-4059-9_18
- KUMAR, V., J. SINGH & P. KUMAR. 2019. Heavy metals accumulation in crop plants: Sources, response mechanisms, stress tolerance and their effects. En: KUMAR, V., R. KUMAR, J. SINGH & P. KUMAR (eds.), *Contaminants in Agriculture and Environment: Health Risks and Remediation*, pp. 38-57. Agro Environ Media, Haridwar. <https://doi.org/10.26832/AESA-2019-CAE>

- LAM, P. K. S. & J. S. GRAY. 2003. The Use of Biomarkers in Environmental Monitoring Programme. *Mar. Pollut. Bull.* 46: 182-186.
[https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00449-6](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00449-6)
- LAM, P. K. S. 2009. Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean Coast. Manag.* 52: 348-354.
<https://10.1016/j.ocecoaman.2009.04.010>
- LAGADIC, L., T. CAQUET & F. RAMADE. 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (5). Invertebrate populations and communities. *Ecotoxicology* 3: 193-208.
- LEWIS, M. & G. THURSBY. 2018. Aquatic plants: test species sensitivity and minimum data requirement evaluations for chemical risk assessments and aquatic life criteria development for the USA. *Environ. Pollut.* 238: 270-280.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.003>
- LLATANCE OYARCE, W., J. EMILIANI, D. BERGARA, L. SALVATIERRA & L. PÉREZ. 2019. Caracterización de los mecanismos de fitorremediación de *Salvinia* sp. frente a la exposición a metales pesados y su impacto sobre la fisiología vegetal. *Energeia* 16: 37-45.
- MANARA, A. 2012. Plant responses to heavy metal toxicity. En: FURINI, A. (ed.), *Plants and heavy metals*, pp. 27-53. Springer, Dordrecht.
https://doi.org/10.1007/978-94-007-4441-7_2
- MELACON, M. 1995. Bioindicators used in aquatic and terrestrial monitoring. En: HOFFMAN, D. J., A. R. BARNETT, G. A. BURTON Jr. & J. CAIRNS Jr. *Handbook of Ecotoxicology*, pp. 220-240. Lewis Publisher, Florida.
- MENCH, M., J. P. SCHWITZGUEBEL, P. SCHROEDER, V. BERT & S. GUPTA. 2009. Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16: 876-900.
<https://doi.org/10.1007/s11356-009-0252-z>
- MIRETZKY, P., A. SARALEGUI & A. F. CIRELLI. 2004. Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). *Chemosphere* 8: 997-1005.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.07.024>
- MITHÖFER, A., B. SCHULZE & W. BOLAND. 2004. Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. *FEBS Lett.* 566: 1-5.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.04.011>
- OLGUÍN, E. J., E. HERNÁNDEZ & I. RAMOS. 2002. The effect of both different light conditions and the pH value on the capacity of *Salvinia minima* Baker for removing cadmium, lead and chromium. *Acta Biotechnol.* 22: 121-131. [https://doi.org/10.1002/1521-3846\(200205\)22:1/2<121::AID-ABIO121>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1521-3846(200205)22:1/2<121::AID-ABIO121>3.0.CO;2-F)
- OLGUÍN, E. J., G. SÁNCHEZ-GALVÁN & T. PÉREZ-PÉREZ. 2007. Assessment of the phytoremediation potential of *Salvinia minima* Baker compared to *Spirodela polyrrhiza* in high-strength organic wastewater. *Water Air Soil Pollut.* 181: 135-147.
- PARIDA, P., K. B. SATAPATHY & A. MOHAPATRA. 2020. Phytoremediation potential of aquatic macrophyte *Azolla pinnata* R. Br. and *Salvinia molesta* Mitchell to remove chromium from waste water. *Plant Arch.* 20: 2595-2601.
- PRADO, C., E. PAGANO, F. E. PRADO & M. ROSA. 2012. Detoxification of Cr(VI) in *Salvinia minima* is related to seasonal-induced changes of thiols, phenolics and antioxidative enzymes. *J. Haz. Mat.* 239-240: 355-361.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.09.010>
- PRADO, C., E. PAGANO, F. E. PRADO & M. ROSA. 2013. Metabolic interconnectivity among alternative respiration, residual respiration, carbohydrates and phenolics in leaves of *Salvinia minima* exposed to Cr(VI). *Environ. Exp. Bot.* 87: 32-38.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.10.005>
- PRADO, C., F. E. PRADO, E. PAGANO & M. ROSA. 2015. Differential effects of Cr(VI) on the ultrastructure of chloroplast and plasma membrane of *Salvinia minima* growing in summer and winter. Relationships with lipid peroxidation, electrolyte leakage, photosynthetic pigments, and carbohydrates. *Water Air Soil Pollut.* 226: 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11270-014-2284-3>
- PRADO, C., M. ROSA, E. PAGANO, M. HILAL & F. E. PRADO. 2010. Seasonal variability of physiological and biochemical aspects of chromium accumulation in outdoor-grown *Salvinia minima*. *Chemosphere* 81: 584-593.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.033>
- PSOTOVÁA, J., J. LASOVSKÝB & J. VIČARA. 2003. Metal-chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. *Biomed. Papers* 147: 147-153.
<https://doi.org/10.5507/bp.2003.020>
- RAHMAN, M. M., K. S. ISLAM & Y. CHONGLING. 2010. Effect of chromium stress on antioxidative enzymes and malondialdehyde content activities in leaves and roots of mangrove seedlings *Kandelia candel* (L.) Druce. *J. For. Environ. Sci.* 26: 171-179.

- REZANIA, S., S. M. TAIB, M. F. M. DIN, F. A. DAHALAN & H. KAMYAB. 2016. Comprehensive review on phytotechnology: Heavy metals removal by diverse aquatic plants species from wastewater. *J. Hazard. Mat.* 318: 587-599.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.07.053>
- RIAZ, M. W., M. I. YOUSAF, Q. HUSSAIN, M. YASIR, ... & L. SHAH. 2023. Role of lignin in wheat plant for the enhancement of resistance against lodging and biotic and abiotic stresses. *Stresses* 3: 434-453.
<https://doi.org/10.3390/stresses3020032>
- ROSA, M., C. PRADO, G. PODAZZA, R. INTERDONATO, ... & F. PRADO. 2009. Soluble sugars metabolism, sensing and abiotic stress. *Plant Signal. Behav.* 5: 388-393.
- ROSA, M., C. PRADO, S. CHOCOBAR-PONCE, E. PAGANO & F. E. PRADO. 2017. Effect of seasonality and Cr(VI) on starch-sucrose partitioning and related enzymes in floating leaves of *Salvinia minima*. *Plant Physiol. Biochem.* 118: 1-10.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.05.014>
- RÜDEL, H. & K. TERYTZE. 1999. Determination of extractable chromium (VI) in soils using a photometric method. *Chemosphere* 39: 697-708.
- SÁNCHEZ-GALVÁN, G., O. MONROY, J. GÓMEZ & E. J. OLGUÍN. 2008. Assessment of the hyperaccumulating lead capacity of *Salvinia minima* using bioadsorption and intracellular accumulation factors. *Water Air Soil Pollut.* 194: 77-90.
<https://doi.org/10.1007/s11270-008-9700-5>
- SHANKER, A. K., C. CERVANTES, H. LOZA-TAVERA & S. AVUDAINAYAGAM. 2005. Chromium toxicity in plants. *Environ. Int.* 31: 739-53.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003>
- SHARMA, A., D. KAPOOR, J. WANG, B. SHAHZAD, ... & D. YAN. 2020. Chromium bioaccumulation and its impacts on plants: an overview. *Plants* 9: 100.
<https://doi.org/10.3390/plants9010100>
- SHARMA, S. S. & K. J. DIETZ. 2008. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Plant Sci.* 14: 43-50.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.007>
- SOLOMOS, T. & G. G. LATIES. 1975. The mechanism of ethylene and cyanide action in triggering the rise in respiration in potato tubers. *Plant Physiol.* 55: 73-78.
- SWAIN, T. & W. E. HILLIS. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The analysis of tissues of the Victoria plum tree. *J. Sci. Food Agr.* 10: 63-68.
- TIMALSINA, H., T. GYAWALI, S. GHIMIRE & S. R. PAUDEL. 2022. Potential application of enhanced phytoremediation for heavy metals treatment in Nepal. *Chemosphere* 306: 135581.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135581>
- URQUIAGA, I. & F. LEIGHTON. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol. Res.* 33: 55-64.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602000000200004>
- VAIOPOULOU, E. & P. GIKAS. 2020. Regulations for chromium emissions to the aquatic environment in Europe and elsewhere. *Chemosphere* 254: 126876.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126876>
- VELUSAMY, K., S. PERIYASAMY, P. S. KUMAR, G. RANGASAMY, ... & D. V. NGUYEN VO. 2022. Biosensor for heavy metals detection in wastewater: A review. *Food Chem. Toxicol.* 168: 113307. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113307>
- WAKEEL, A., M. XU & Y. GAN. 2020. Chromium induced reactive oxygen species accumulation by altering the enzymatic antioxidant system and associated cytotoxic, genotoxic, ultrastructural, and photosynthetic changes in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 21: 728.
<https://doi.org/10.3390/ijms21030728>
- WANG, Q., H. LI, Y. ZHANG, X. WANG, ... & W. QU. 2019. Evaluations of submarine groundwater discharge and associated heavy metal fluxes in Bohai Bay, China. *Sci. Total Environ.* 695: 133873.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133873>
- WILSON, G. & S. AL-HAMDANI. 1997. Effect of chromium (VI) and humic substances on selected physiological responses of *Azolla caroliniana*. *Am. Fern J.* 87: 17-27.
- YADAV, S. K., A. A. JUWARKAR, G. P. KUMAR, P. R. THAWALE, ... & T. CHAKRABARTI. 2009. Bioaccumulation and phytotranslocation of arsenic, chromium, and zinc by *Jatropha curcas* L.: impact of dairy sludge and biofertilizer. *Bioresour. Technol.* 100: 4616-4622.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.04.062>
- YAMASAKI, H., Y. SAKIHAMA & N. IKEHARA. 1997. Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiol.* 115: 1405-1412.

SOCIEDAD ARGENTINA DE BOTÁNICA

Comisión Directiva

Presidenta: Mariana Andrea GROSSI
Vice-Presidenta: Alicia LOPEZ MENDEZ
Secretaria: Agustina YAÑEZ
Secretario de Actas: Pedro Cayetano BERRUETA
Tesorera: Eliana COTUREL
Protesorera: Carmen Cecilia MACLUF

Vocales titulares

Adolfina SAVORETTI, Federico Omar ROBBIATI, Jorge Rafael FLORES, Vanina SALGADO,
Marisa BONASORA

Vocales suplentes

Renato Andrés GARCÍA, Jessica Noelia VIERA BARRETO, María Belén DOUMECQ,
Juan Facundo RODRIGUEZ CRAVERO

Revisores de cuentas

Agostina Belén SASSONE, Elián Leandro GUERRERO

Para asociarse, puede contactarse con la sede central de la sociedad, o bien consultar en www.botanicaargentina.org.ar las direcciones de los representantes locales distribuidos en todo el país.

Categorías de asociados:

Protectores: aquellos que abonan una cuota anual doble a la de un socio activo.

Benefactores: los que donan una suma equivalente o mayor a cien cuotas anuales de socio activo, o bien que pagan una cuota anual equivalente a diez veces la de socio activo.

Vitalicios: los que pagan de una sola vez el equivalente a 30 cuotas de socio activo.

Activos: los que pagan la cuota societaria que se establece cada año.

Institucionales: personas jurídicas que pagan una cuota anual no menor a la de socio activo.

Adherentes: estudiantes de nivel terciario que pagan una cuota societaria equivalente al 50% de la cuota anual de socio activo.

El diseño del isotipo de la S.A.B. pertenece a Nidia Flury.
El maquetado del presente volumen fue hecho por María Cecilia Puigbó (IBONE).

La Sociedad Argentina de Botánica es una asociación civil sin fines de lucro, cuyos propósitos son:

- a) agrupar a los profesionales y aficionados a la Botánica
- b) fomentar el progreso de todas las ramas de esta ciencia
- c) editar trabajos de investigación botánica
- d) propender al mejoramiento de la enseñanza de la Botánica, en todos los niveles
- e) estimular la protección de la vegetación natural
- f) organizar y auspiciar reuniones científicas
- g) llevar a cabo excursiones botánicas
- h) contribuir a una mayor precisión de la terminología botánica.



Sede Central

SOCIEDAD ARGENTINA DE BOTÁNICA

Museo de Ciencias Naturales de La Plata

Paseo del Bosque s/n, B1900 La Plata,

Provincia de Buenos Aires, Argentin

E-mail: sabotanica@gmail.com

Domicilio legal: Av. Angel Gallardo 470. CP (C1405DJR)

Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Argentina

Página WEB: www.botanicaargentina.org.ar

En venta en la Argentina y en el exterior:

LIBRERÍA L.G.C

Pasaje Gallego 3570

CP (C1240ACD)

Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Argentina

Teléfono: (011) 49241140.