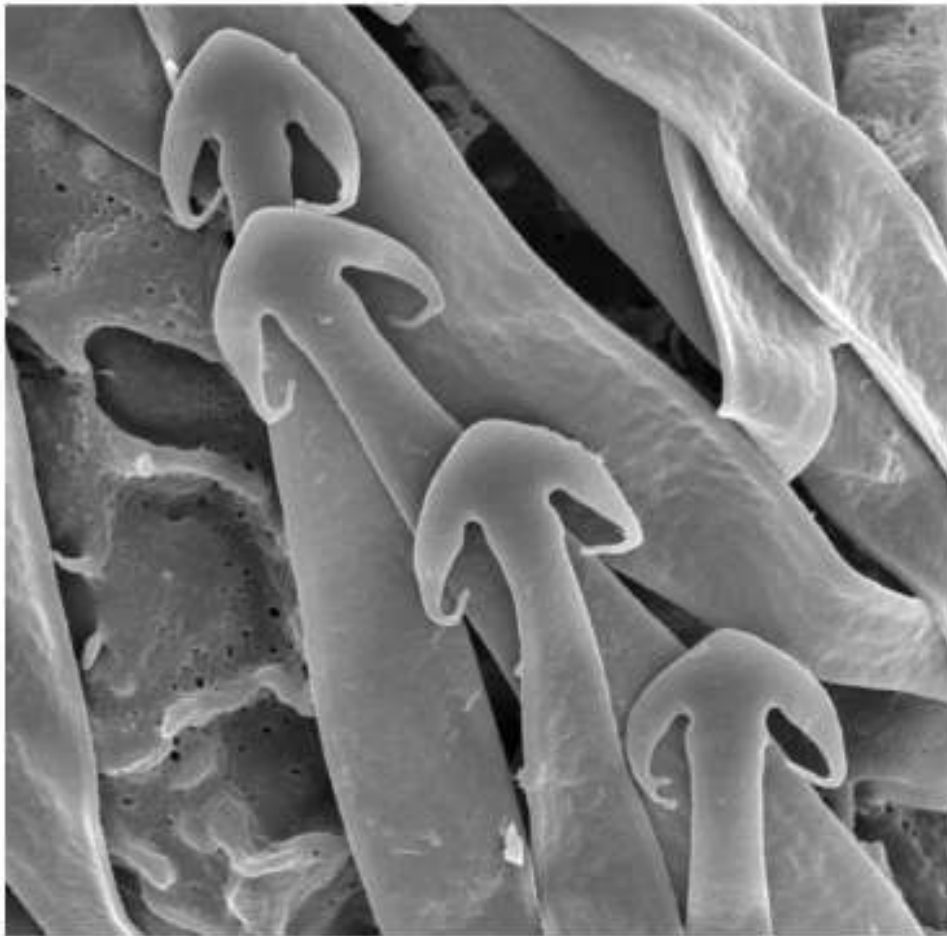


PAULA GARDENAL

MORFOLOGÍA Y ULTRAESTRUCTURA DE LAS ESPORAS DE FILICOPHYTA HETEROSPORADAS PRESENTES EN EL CONO SUR DE AMÉRICA MERIDIONAL



Manuscrito de tesis para ser presentado ante la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, para la obtención del título de Doctor en Ciencias Naturales

Directora: Dra. Marta A. Morbelli  
Co-Directora: Dra. Gabriela E. Giudice

La Plata  
2009

## INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUCCION.....	1
1. 1. Presentación del tema.....	2
1. 2. Antecedentes.....	5
1.2.1. Estudios morfológicos, estructurales, ultraestructurales y de desarrollo....	5
1.2.2. Referencias a aspectos palinológicos del grupo dentro del área de estudio...	7
1. 3. Hipótesis.....	8
1. 4. Objetivos.....	9
1. 5. Características del fenómeno de la heterosporia.....	10
1.6. Consideraciones sobre la terminología empleada para la identificación y descripción de la esporodermis en el grupo de estudio.....	12
2. MATERIALES Y METODOS.....	14
2. 1. Taxa presentes en el área de estudio.....	15
2. 2. Área de distribución de cada taxón.....	15
2. 3. Estudio del material.....	16
2. 3. 1. Obtención de los ejemplares estudiados.....	16
2. 3. 2. Tratamiento del material.....	17
2. 4. Ilustraciones.....	19
2. 5. Terminología.....	20
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21

3. 1. Azollaceae.....	22
3. 1. 1. Consideraciones generales.....	23
3. 1. 2. Organización general.....	25
3. 1. 3. <i>Azolla cristata</i> .....	30
3. 1. 4. <i>Azolla filiculoides</i> .....	46
3. 1. 5. Discusión.....	60
3. 2. Salviniaceae.....	64
3. 2. 1. Consideraciones generales.....	65
3. 2. 2. <i>Salvinia adnata</i> .....	68
3. 2. 3. <i>Salvinia auriculata</i> .....	72
3. 2. 4. <i>Salvinia biloba</i> .....	80
3. 2. 5. <i>Salvinia minima</i> .....	93
3. 2. 6. Discusión.....	101
3. 3. Marsileaceae.....	104
3. 3. 1. Consideraciones generales.....	105
3. 3. 2. <i>Marsilea ancylopoda</i> .....	108
3. 3. 3. <i>Marsilea crotophora</i> .....	120
3. 3. 4. <i>Marsilea deflexa</i> .....	129
3. 3. 5. <i>Marsilea mollis</i> .....	138
3. 3. 6. <i>Marsilea polycarpa</i> .....	147
3. 3. 7. <i>Pilularia americana</i> .....	154
3. 3. 8. <i>Regnellidium diphyllum</i> .....	165
3. 3. 9. Discusión.....	179

4. CONCLUSIONES.....	185
5. BIBLIOGRAFIA.....	196
GLOSARIO.....	205

## Agradecimientos

---

A Marcos y a toda mi familia, por el apoyo recibido, por el cariño y la determinación con que me acompañaron estos años.

A mi Directora, la Dra. Marta A. Morbelli y a mi Co-Directora, Dra. Gabriela E. Giudice, por compartir su experiencia y conocimientos, por su ayuda, dedicación y estímulo.

A mis compañeros de trabajo, por su apoyo, consejo y aliento. En particular a la Lic. Cecilia Macluf y al Dr. Gonzalo Marquez por su ayuda para conseguir parte del material de herbario.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por el apoyo económico para concretar la Tesis Doctoral.

Al Lic. Rafael Urrejola, del Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido del Museo de Ciencias Naturales de La Plata.

Al Ing. Luis Zimmermann, del Servicio de Microscopía Electrónica de Transmisión del LANAIS, Facultad de Medicina (UBA).

A la Sra. Isabel Farías, del Instituto de Neurobiología (IDNEU/CONICET), por su ayuda con el procesamiento del material para su observación con MET.

A los curadores de los herbarios consultados, por el envío del material estudiado.

## RESUMEN

---

La presente Tesis abarcó el estudio de las esporas de las familias Azollaceae, Salviniaceae y Marsileaceae que crecen en el Cono Sur de Sudamérica. El área de estudio comprende Bolivia, el sur de Brasil (estados de Paraná, Santa Catarina y Rio Grande do Sul), Chile, Paraguay, Uruguay y Argentina. Estas familias son únicas dentro de las Filicophyta por presentar heterosporia y estar adaptadas en diversos grados al ambiente acuático.

En primer lugar se actualizó el número de taxa de estas familias y su distribución dentro de la región. La distribución fue determinada en base a la bibliografía existente y a la revisión de los datos de colección del material.

Posteriormente, y como propósito fundamental de esta investigación, se llevó a cabo el análisis comparativo de la morfología y estructura de las esporas en todos los taxa. Con tal finalidad se reconocieron la organización y las características externas de ambos tipos de esporas y la estructura y ultraestructura de sus paredes.

Se utilizó material seco proveniente de herbarios nacionales y extranjeros. Las esporas se estudiaron con distintos medios: microscopio óptico, electrónico de barrido y de transmisión. El material fue tratado con distintos protocolos, según el medio de observación empleado.

La familia Azollaceae está integrada por el género *Azolla*, representado por dos especies en el área: *Azolla cristata* Kaulfuss y *A. filiculoides* Lamarck. Esta última tiene una distribución amplia, desde Canadá hasta las zonas más australes en Argentina y Chile, mientras que *A. cristata* se encuentra desde el centro de América del Norte hasta las provincias de Buenos Aires y La Pampa (Argentina). El área de distribución de *A. filiculoides* se amplió confirmando su presencia en las provincias de Neuquén y Chubut (Argentina).

A nivel palinológico, ambas especies presentan un sistema integrado por la megaspora y estructuras accesorias localizadas por sobre el área proximal: collar, columna y flotadores. La longitud de todo el sistema es de 427- 560  $\mu\text{m}$ . Las características de la superficie de las megasporas son diferentes en cada especie. En sección, la esporodermis presenta un exosporio lacunoso y un episporio con dos capas. Ambas capas del episporio son lacunosas en *A. cristata*, mientras que en *A. filiculoides* la capa interna es lacunosa y la externa es compacta. El collar y la columna poseen asimismo una estructura lacunosa.

Las microsporas están reunidas en másulas de 100 – 215  $\mu\text{m}$  de longitud según su eje mayor. Las másulas son de estructura lacunosa y poseen gloquidios en su superficie, los cuales presentan características particulares en cada especie. Las microsporas de ambas especies son de 12 – 33  $\mu\text{m}$  de diámetro, triletes, esferoidales, de superficie rugulada. La pared en sección está compuesta por un exosporio homogéneo, compacto.

La familia Salviniaceae está representada dentro del área de estudio por cuatro especies: *Salvinia adnata* Desvaux, *S. auriculata* Aublet, *S. biloba* Raddi y *S. minima* Baker. El área de *Salvinia adnata* está restringida al sur de Brasil; las otras tres especies tienen una distribución simpátrica dentro de la región, en las cuencas de los grandes ríos (Paraná, Paraguay, Uruguay, de la Plata) y su límite austral se localiza en la provincia de Buenos Aires (Argentina).

En esta Tesis se describieron por primera vez las esporas y másulas de *Salvinia biloba* y *S. minima*, y se describió en detalle el área proximal de las megasporas de *S. auriculata*, cuyas particularidades no habían sido determinadas con anterioridad.

De acuerdo a la investigación realizada y a la información éditada, *Salvinia adnata* produce esporas no desarrolladas o abortadas, razón por la cual se infiere que la supervivencia de la misma solo sería posible por vía vegetativa.

Las megasporas en las restantes especies son triletes, de 180 – 435  $\mu\text{m}$  de diámetro polar, de contorno irregularmente circular en vista polar y ovado en vista ecuatorial. La superficie presenta lomos y perforaciones. La esporodermis consta de un exosporio compacto y un episporio lacunoso, con dos estratos. En el polo proximal presentan una proyección integrada por un tabique trirradiado interno y tres facetas externas. La morfología de esta proyección es diferente en *S. minima*, donde las facetas laterales son aplanadas.

Las microsporas se encuentran incluidas en másulas esferoidales a elipsoidales, de 145 – 240  $\mu\text{m}$  de longitud de acuerdo a su eje mayor, de estructura lacunosa. Las microsporas en todas las especies son triletes, de 15 – 36  $\mu\text{m}$  de diámetro, esferoidales, con ornamentación rugulada. El exosporio en sección es compacto.

La familia Marsileaceae está representada en el área de estudio por tres géneros: *Marsilea*, con cinco especies (*Marsilea ancylopoda* A. Braun, *M. crotophora* D. M. Johnson, *M. deflexa* A. Braun, *M. mollis* Robinson & Fernald y *M. polycarpa* Hooker & Greville), *Pilularia*, con una especie (*P. americana* A. Braun) y *Regnellidium*, con la especie *R. diphyllum* Lindman. La mayoría de las especies de *Marsilea* se distribuyen en el norte del área de estudio, en áreas del sur de Brasil, Bolivia y Paraguay y norte de

Argentina, mientras que *M. ancylopoda* se extiende hasta la región patagónica en Argentina. *Pilularia* es de distribución amplia en todo el continente y llega hasta la Patagonia. *Regnellidium* es endémico del sur de Brasil, Uruguay y la provincia de Corrientes (Argentina). El área de distribución de *M. ancylopoda* se amplió confirmando la presencia de esta especie en las provincias de Entre Ríos, Jujuy y La Pampa (Argentina).

Las megasporas de esta familia son elipsoidales, de 253 – 605  $\mu\text{m}$  de diámetro polar, de superficie rugulada a reticulada, con una papila proximal con características particulares en cada género. La esporodermis posee un exosporio compacto y un episporio lacunoso, con tres capas. Las capas interna y media están integradas por cordones que se disponen de forma característica, mientras que la capa externa es lamelar.

Las microsporas en los tres géneros se dispersan en unidades, son triletas, de 33 – 71  $\mu\text{m}$  de diámetro, esferoidales; en *Regnellidium* poseen además una papila proximal. La superficie es verrucosa a clavada-pilada en *Marsilea* y verrucosa en *Pilularia* y *Regnellidium*. La esporodermis en sección consta de un exosporio con dos capas y un episporio lacunoso. El análisis con MET ha permitido evidenciar que el episporio está integrado por una lámina plegada, que determina grandes espacios y una capa delgada, lamelar, superficial en *Marsilea*. En *Pilularia* y *Regnellidium* además se encuentra una capa de cordones por debajo de la capa plegada.

Las características palinológicas son diagnósticas a distintos niveles taxonómicos. Así, la morfología general de las megasporas permite la diferenciación hasta género de todos los taxa. Dentro de la familia Marsileaceae, la morfología general de las microsporas junto con las características del exosporio son diagnósticas a nivel de género. La forma de las másulas y la presencia de gloquidios en las especies estudiadas de *Azolla* permite diferenciarlas de aquéllas de *Salvinia*.

A nivel de especie son diagnósticos en *Azolla* las particularidades de la superficie y la estructura del episporio de las megasporas y en menor medida, las características de los gloquidios de las másulas. En *Salvinia*, las megasporas de *S. minima* pueden diferenciarse de las otras dos especies que producen esporas por las características de la proyección proximal. En *Marsilea* se puede separar a las especies en dos grupos, de acuerdo a la morfología de las papilas proximales de las megasporas.



En general a pesar de las diferencias en la latitud o altitud de los sitios de colección del material, no se observaron diferencias intraespecíficas en la morfología o estructura de la esporas. Probablemente esto se deba a la estabilidad del hábitat acuático ocupado por las Filicophyta heterosporadas, donde el desarrollo de las esporas no se ve afectado por cambios ambientales.

El episporio lacunoso de las megasporas de todos los géneros estudiados y de las microsporas de Marsileaceae, así como la estructura lacunosa de las másulas de *Salvinia* podría relacionarse con el incremento la flotabilidad, en el momento en que las esporas o másulas se liberan en la columna de agua.

De acuerdo a los datos derivados de esta investigación, la identificación de las mega-, microsporas o másulas de las Filicophyta heterosporadas aportarían datos para las reconstrucciones paleoambientales.

Por otro lado, las características morfológicas, estructurales y ultraestructurales de ambos tipos de esporas de estas familias podrían resultar útiles para comprender el desarrollo de la heterosporía al compararlas con taxa fósiles relacionados.

## ABSTRACT

---

This Thesis presents the study of the spores of the Azollaceae, Salviniaceae and Marsileaceae families that grown in the South Cone of South America. The study area comprises Bolivia, Southern Brazil (states of Parana, Santa Catarina and Rio Grande do Sul), Chile, Paraguay, Uruguay and Argentina. These families are unique among the Filicophyta since they show heterospory and are adapted in various degrees to the aquatic environment.

Firstly, the number of taxa of these families and their distribution within this region was updated. The distribution was determined based on the existing bibliography and the revision of the material collection data.

Then, and as the main purpose of this research work, the morphology and structure of the spores were comparatively analyzed in all the taxa. The organization and external features of both types of spores and the structure and ultrastructure of their walls were then recognized.

Dry material from national and foreign herbariums was used. Spores were studied with different instruments: light microscope, scanning electron microscope and transmission electron microscope. The material was treated with different protocols depending on the observation method used.

The Azollaceae family comprises the *Azolla* genus which is represented by two species in this area: *Azolla cristata* Kaulfuss and *A. filiculoides* Lamarck. The latter has a broad distribution from Canada to the most southern areas in Argentina and Chile whereas the *A. cristata* is found from the centre of North America to the provinces of Buenos Aires and La Pampa (Argentina). The presence of *A. filiculoides* was confirmed in the provinces of Neuquén and Chubut (Argentina).

Palynologically both species show a system comprised by the megaspore and accessory structures located over the proximal area: collar, column and floats. The length of the entire system is 427-560  $\mu\text{m}$ . The characteristics of the megaspore surface are different in each species. In cross section, the sporoderm shows a lacunose exospore and a two-layered episporium. Both layers of the episporium are lacunose in *A. cristata*, whereas in *A. filiculoides* the inner layer is lacunose and the outer one is compact. The collar and the column also show a lacunose structure.

Microspores are gathered in massulae which are 100 – 215  $\mu\text{m}$  long depending on their major axis. Massulae have a lacunose structure and glochidia on their surface, which show particular characteristics in each species. The microspores of both species are 12 – 33  $\mu\text{m}$  in diameter, trilete, spheroidal and have a rugulate surface. The wall in section comprises a homogeneous and compact exospore.

The Salviniaceae family is represented in the study area by four species: *Salvinia adnata* Desvaux, *S. auriculata* Aublet, *S. biloba* Raddi and *S. minima* Baker. The *Salvinia adnata* area is restricted to Southern Brazil, the other three species have a sympatric distribution within the region, in the basins of the big rivers (Paraná, Paraguay, Uruguay, de la Plata) and their southern limit is located in the province of Buenos Aires (Argentina).

In this Thesis spores and massulae of *Salvinia biloba* and *S. minima* were first described and the proximal area of *S. auriculata* megaspores, whose particularities had not been previously determined, was described.

According to the research and the published information *Salvinia adnata* produces spores which are not developed or are aborted, this is why it is inferred that it would only survive through vegetative multiplication.

The megaspores in the remaining species are triletes, 180 – 435  $\mu\text{m}$  in polar diameter, of irregularly circular contour in polar view and ovoid in equatorial view. The surface shows ridges and perforations. The sporoderm consists of a compact exospore and a lacunose episporium with two strata. In the proximal pole they show a projection made up of an inner triradiate partition wall and three outer facets. The morphology of this projection is different in *S. minima* where the lateral facets are flat.

The microspores are included in spheroidal to ellipsoidal massulae which are 145-240  $\mu\text{m}$  long depending on its major axis, of lacunose structure. The microspores in all the species are triletes, 15-36  $\mu\text{m}$  in diameter, spheroidal with rugulate ornamentation. In cross section the exospore is compact.

The Marsileaceae family is represented in the study area by three genera: *Marsilea*, with five species (*Marsilea ancylopoda* A. Braun, *M. crotophora* D. M. Johnson, *M. deflexa* A. Braun, *M. mollis* Robinson & Fernald and *M. polycarpa* Hooker & Greville), *Pilularia*, with one species (*P. americana* A. Braun) and *Regnellidium*, with the *R. diphyllum* Lindman species. Most of the *Marsilea* species are distributed in the north of the study area, in areas of

southern Brazil, Bolivia and Paraguay and north of Argentina, whereas *M. ancylopoda* is extended up to the Patagonic region in Argentina. *Pilularia* shows a broad distribution all over the continent and reaches the Patagonia. *Regnellidium* is endemic of southern Brazil, Uruguay and the province of Corrientes (Argentina). The area of distribution of *M. ancylopoda* was extended and the presence of this species was confirmed in the provinces of Entre Ríos, Jujuy and La Pampa (Argentina).

The megaspores of this family are ellipsoidal, 253 – 605 µm in polar diameter, of rugulate to reticulated surface, with a proximal papilla with particular features in each genus. The sporoderm possesses a compact exospore and a lacunose episporium with three layers. The inner and intermediate layers are made up of threads that are arranged in a characteristic way whereas the outer layer is lamellar.

The microspores in the three genera are dispersed in units, they are trilete, 33 – 71 µm in diameter and spheroidal; in *Regnellidium* they also have a proximal papilla. Their surface is verrucate to clavate-pilate in *Marsilea* and verrucate in *Pilularia* and *Regnellidium*. In cross section the sporoderm consists of a two-layered exospore and a lacunose episporium. The TEM analysis has confirmed that the episporium is made up of a folded lamella which determines big spaces and a thin, lamellar and superficial layer in *Marsilea*. In *Pilularia* and *Regnellidium* there is also a thread formed layer under the folded one.

The palynological features are diagnostic at different taxonomic levels. Thus, the general morphology of megaspores allows to differentiate even the genus of all the taxa. Within the Marsileaceae family, the general morphology of microspores and the exospore features are diagnostic at genus level. The massula shape and the glochidia in the studied species of *Azolla* allow to differentiate them from those of the *Salvinia* ones.

At species level in *Azolla* the surface and structure features of the megaspore episporium and to a lesser extent the glochidium features of the massulae are diagnostic in *Azolla*. In *Salvinia*, the *S. minima* megaspores can be differentiated from the other two species that produce spores due to the characteristics of the proximal projection. In *Marsilea* the species can be separated into two groups depending on the morphology of the proximal papillae of the megaspores.

In spite of the differences in latitude and altitude of the material collection sites no intraspecific differences were observed in the spore morphology or structure. This is

probably due to the stability of the aquatic habitat occupied by the heterosporous Filicophyta, where the development of the spores is not affected by environmental changes.

The lacunose epispore of the megaspores of all the studied genera and the Marsileaceae microspores as well as the lacunose structure of the *Salvinia* massulae could be associated with the increment of floatability when spores or massulae are released in the water column.

According to the data derived from this research work, the identification of the mega-, microspores or massulae of the heterosporous Filicophyta would contribute for the paleoenvironmental reconstructions.

On the other hand, the morphological, structural and ultrastructural characteristics of both types of spores of these families could be useful to understand the development of the heterospory when compared with related fossil taxa.

# 1. INTRODUCCIÓN

---

## 1.1. Presentación del tema

---

El objetivo de esta investigación es el estudio palinológico de los taxa pertenecientes a las familias Azollaceae, Salviniaceae y Marsileaceae presentes en la parte austral de Sudamérica.

Las familias Azollaceae Wettstein, Salviniaceae Lestiboudois y Marsileaceae Mirbel forman un grupo monofilético, de acuerdo a los recientes estudios filogenéticos de Rothwell & Stockey, (1994) y Pryer (1999). Según los esquemas propuestos por estos autores Azollaceae y Salviniaceae conformarían un clado, del que Marsileaceae sería un grupo hermano:

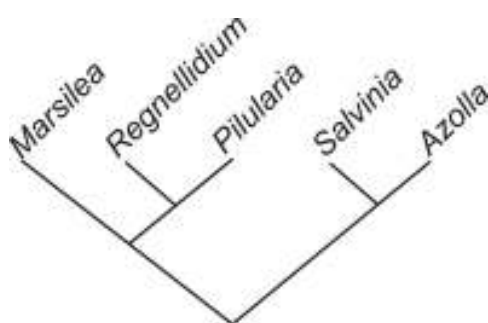


Fig. I. Esquema filogenético de las Filicophyta heterosporadas, según Rothwell & Stockey (1994) y Pryer (1999).

Los integrantes de este grupo se distinguen por su adaptación al medio acuático o palustre y por la presencia de heterosporía, caracteres que son considerados derivados dentro de los helechos.

Los primeros registros de estas familias hallados hasta el momento se remontan al Cretácico Superior (esporas asignadas a Azollaceae) y al Terciario Inferior (esporas asignadas a Salviniaceae y Marsileaceae). Debido a su resistencia a las condiciones de fosilización, las esporas restos más antiguos conservados.

*Azolla* Lam. es el único género de la familia Azollaceae. Tiene una distribución amplia, tanto en regiones tropicales como templadas en todo el mundo. Posee solo cuatro especies, de las cuales dos están presentes en América (Evrard & Van Hove, 2004).

La familia Salviniaceae incluye un único género, *Salvinia* Ség., característico de aguas ricas en nutrientes de las regiones tropicales y templadas (Kramer, 1990).

Mundialmente se reconocen alrededor de doce especies. En América se ha reportado la presencia de ocho de ellas (de la Sota, 2001).

La familia Marsileaceae está integrada por tres géneros: *Marsilea* L., *Pilularia* L. y *Regnellidium* Lindm. Todos ellos están presentes en América (Tryon & Tryon, 1982). *Marsilea* es el género que comprende el mayor número de especies, alrededor de cincuenta, es cosmopolita y vive tanto en regiones tropicales como templadas. En el sur de Sudamérica se encuentran cinco especies (Johnson, 1986). *Regnellidium* es un género monotípico, con una distribución restringida a áreas del sur de Brasil, Uruguay y el noreste de Argentina. *Pilularia* es de distribución amplia y disyunta. Se lo encuentra en América del Norte y del Sur, Europa, Australia, Tasmania y Nueva Zelanda (Tryon & Lugardon, 1991). Posee cinco especies, de las cuales una está presente en el área de estudio.

En los estudios palinológicos llevados a cabo hasta el momento sobre helechos, en general se ha privilegiado el análisis de los isosporados, grupo muy diverso y de amplia distribución, integrado por plantas de porte conspicuo. Los helechos heterosporados, de pequeño porte y restringidos a los ambientes acuáticos, han sido en cambio escasamente coleccionados y estudiados. La falta de atención a los taxa de Filicophyta heterosporados ha traído como consecuencia que estén poco representados en las colecciones de herbario. En muchos casos el material existente se colectó estéril y ha permanecido por años sin determinar. Por otro lado, el material fijado es escaso y no existen colecciones permanentes. Las dificultades planteadas conducen a un cierto desconocimiento de la diversidad dentro del grupo, de su distribución y los requerimientos de cada especie.

Los hábitats acuáticos o pantanosos ocupados por estos helechos son en general áreas frágiles, cuyo equilibrio puede ser fácilmente perturbado, poniendo en peligro la subsistencia de las especies.

El área de estudio seleccionada es el Cono Sur de Sudamérica, que comprende, según de la Sota (1973), la totalidad de Argentina, Chile y Uruguay, Brasil austral (estados de Rio Grande do Sul, Santa Catarina y Paraná), Paraguay y Bolivia (Fig. II).

Ésta es una región extensa, compleja y rica desde el punto de vista florístico. Se caracteriza por la gran variedad de ambientes que la componen, desde áreas desérticas o montañosas hasta selvas y humedales. Como contribución al conocimiento de su diversidad se está llevando a cabo un proyecto que estudia desde el punto de vista



palinológico los helechos iso- y heterosporados que crecen en la región. Dentro de este marco, el objetivo de esta investigación es ampliar el conocimiento de los taxa pertenecientes a las familias Azollaceae, Salviniaceae y Marsileaceae presentes en el área. Los estudios palinológicos de las Filicophyta heterosporadas dentro de la región son escasos. La información existente pertenece a Floras editadas en las décadas del '50 y '60. Estos datos necesitaban ser actualizados, con datos de viajes de campaña realizados posteriormente, cuyos materiales colectados se encuentran dispersos en diferentes herbarios.



Figura II. Área de estudio: Cono Sur de Sudamérica (sombreada en gris).

Hasta el momento, en el área de estudio se han citado las siguientes especies: *Azolla cristata* Kaulff., *A. filiculoides* Lam., *Salvinia adnata* Desv., *S. auriculata* Aubl., *S. biloba* Rad., *S. minima* Bak., *Marsilea ancylopoda* A. Braun, *M. crotophora* D. M. Johnson, *M. deflexa* A. Braun, *M. mollis* Rob & Fern., *M. polycarpa* Hook et Grev., *Pilularia americana* A. Braun y *Regnellidium diphyllum* Lindm. (Johnson, 1986; Ponce, 1996; de la Sota, 2001).

## 1.2. Antecedentes

---

### 1.2.1. Estudios morfológicos, estructurales, ultraestructurales y de desarrollo

Existen varias contribuciones al conocimiento de la palinología de este grupo, algunas de ellas de las primeras décadas del siglo XX. Si bien los medios de observación utilizados en estos casos han sido superados en la actualidad por la microscopía electrónica, la calidad de la información aportada las hace relevantes como fuente de valiosa información sobre el tema.

La morfología, estructura y aspectos del desarrollo de las mega- y microsporas de *Regnellidium diphyllum* fueron descriptos e ilustrados con microscopía óptica por Chrysler & Johnson (1939).

Bonnet (1955) describió la formación de las másulas y microsporas de *Salvinia auriculata*.

El desarrollo de las esporas de *Azolla filiculoides* fue estudiado por Bonnet (1957) utilizando el microscopio óptico. El autor presentó esquemas de los estadios de la formación de megasporas, microsporas y las másulas en las que éstas se reúnen y características de las paredes maduras de las megasporas.

La estructura de las paredes de las megasporas de las especies de *Azolla* presentes en la zona central de Argentina fue estudiada por Di Fulvio (1956), utilizando microscopía óptica. La misma autora amplió posteriormente sus investigaciones a megasporas de ejemplares de *Azolla* del resto de América (Di Fulvio, 1961).

Las obras de Pettitt (1966, 1979) iniciaron importantes estudios de desarrollo de las esporas utilizando microscopía electrónica de transmisión. El autor trató el desarrollo de

las megasporas en *Azolla* y de mega- y microsporas en especies europeas de *Marsilea*. También llevó a cabo investigaciones sobre la ultraestructura de la esporodermis en estos dos géneros.

Erdtman & Sorsa (1971) realizaron descripciones de las microsporas de *Azolla filiculoides* y de especies europeas de *Marsilea*, presentando además esquemas e imágenes obtenidas con microscopía óptica.

Los aportes de Lugardon (1972, 1974) y Lugardon & Husson (1982) contribuyeron a la comprensión del desarrollo y la organización de las paredes de las esporas en los helechos. Estos autores difundieron el concepto de episporio para la pared externa de las esporas de las Filicophyta heterosporadas. El término había sido acuñado por Russow (1874).

La familia Azollaceae ha recibido particular atención por sus estructuras reproductivas, por lo que es, dentro de las Filicophyta heterosporadas, el grupo mejor conocido. Martin (1976a) analizó la morfología y estructura de la esporodermis de megasporas de especies actuales de *Azolla*, y las comparó con especies fósiles asignadas a este género y con megasporas de *Salvinia auriculata* actuales. Fowler & Stennett-Wilsson (1978) realizaron un estudio comparativo de especies de *Azolla* del Nuevo y Viejo Mundo. Los autores describieron la organización de la megaspora y sus estructuras accesorias, propusieron una terminología de uso corriente entre los investigadores de este grupo y analizaron sus características superficiales y la estructura de sus paredes.

Tryon & Tryon (1982) estudiaron las mega- y microsporas de varios taxa de helechos heterosporados de América Tropical. Estos autores describieron su morfología y la estructura de la esporodermis, e ilustraron sus observaciones con microscopía electrónica de barrido.

Perkins et al. (1985) compararon las megasporas de todas las especies actuales de *Azolla* y propusieron que la ornamentación y la estructura de la pared serían caracteres de valor diagnóstico a nivel de especie.

Una obra de referencia obligatoria sobre morfología y ultraestructura de esporas de helechos es la de Tryon y Lugardon (1991). Este trabajo cuenta con ilustraciones con microscopía electrónica de barrido y de transmisión, aportando por lo tanto detalles

significativos para la comprensión de la organización y ultraestructura de las esporas en cada grupo estudiado.

Las mega- y microsporas de la familia Marsileaceae han sido estudiadas por Schneider & Pryer (2002), utilizando tinciones diferenciales que permiten observar una capa gelatinosa externa que se evidencia luego de su liberación. El trabajo incluye algunos de los taxa comprendidos en la región de Cono Sur. Los autores trabajaron con material de *Marsilea ancylopoda* proveniente de México y Ecuador, de *M. crotophora* de Nicaragua y Bolivia, de *M. deflexa* de Costa Rica y Venezuela y *M. polycarpa* de Panamá, las Indias Occidentales, Colombia y Bolivia. Los ejemplares de *Pilularia americana* analizados provenían de Estados Unidos y los de *Regnellidium diphyllum*, de Brasil.

La morfología y ultraestructura de las esporas de *Azolla cristata*, *A. filiculoides*, *Marsilea ancylopoda*, *M. mollis* y *Salvinia minima* del Noroeste de Argentina fueron recientemente estudiadas e ilustradas con microscopía electrónica por Gardenal et al. (2005; 2007). Las megasporas de *S. minima* fueron descritas por primera vez en este trabajo.

Las morfología y ultraestructura de *Salvinia auriculata*, *S. biloba* y *S. minima* presentes en el Cono Sur fueron tratadas por Gardenal et al. (2006; 2008). Estos trabajos presentan el primer análisis comparativo de la morfología y estructura de la esporodermis de las especies, además de brindar la primera descripción de las esporas de *S. biloba*.

### **1.2.2. Referencias a aspectos palinológicos del grupo dentro del área de estudio**

Burkart (1933), al tratar las Pteridophyta nativas o adventicias de los alrededores de la ciudad de Buenos Aires, mencionó la presencia de un posible híbrido entre *Azolla cristata* y *A. filiculoides*, basándose en características vegetativas y de la morfología de megasporas y másulas.

Legrand y Lombardo (1958) en su Flora de Uruguay, hicieron referencia a las másulas de microsporas de *Azolla*, y emplearon las características de sus apéndices externos como un elemento diagnóstico entre dos especies.

De la Sota (1976) citó en *Marsilea mollis* de Argentina la presencia dentro de los microsporangios de esporas normales y además de otras esporas de tamaño reducido, a las que denominó pseudosporas.

Morbelli (1980) en su trabajo sobre las esporas de las Pteridophyta de la región Patagónica describió e ilustró con microscopía óptica y electrónica de barrido la organización de las agregaciones de microsporas y la morfología y estructura de las paredes de mega- y microsporas de *Azolla filiculoides*.

Cabrera y Zardini (1979) en su Flora de los alrededores de la ciudad de Buenos Aires utilizaron caracteres de los apéndices externos de las másulas y de la pared de las megasporas para diferenciar a las dos especies de *Azolla* presentes en la región.

De la Sota (1985), utilizó en una clave las diferencias en la ornamentación de las megasporas para distinguir *Azolla filiculoides* de *A. cristata*, para la Flora de la provincia de La Pampa (Argentina).

Las dimensiones y ornamentación de mega- y microsporas de las especies de *Marsilea* presentes en América fueron brindadas por Johnson (1986). El autor consideró que las esporas no presentaban caracteres diagnósticos a nivel específico y mencionó además que la ornamentación en microsporas es variable dentro de un mismo esporocarpo.

La morfología y ornamentación de las esporas de *Azolla filiculoides*, *Marsilea ancylopoda* y *Pilularia americana* fueron descritas brevemente e ilustradas con MEB en la Flora Patagónica (de la Sota et al., 1998).

### 1.3. Hipótesis

---

- ❖ La diversidad morfológica de la parte reproductiva en este grupo refleja adaptaciones a condiciones de hábitats particulares y diferentes a las del resto de los helechos.
- ❖ Las características de la organización, morfología, y ultraestructura de mega- y microsporas son útiles para diferenciar los taxa.
- ❖ La presencia de esporas con características que se diferencian de los patrones morfológicos o ultraestructurales habituales para cada especie indica la presencia de híbridos.

- ❖ La ultraestructura y contraste de los estratos de las paredes de las esporas dan indicios del origen de los mismos.

#### 1.4. Objetivos

---

Para desarrollar este estudio se cumplieron las siguientes etapas en el orden establecido, según la complejidad y el uso de la información derivada de la etapa precedente:

- ❖ Actualizar la diversidad de los taxa existentes en la región. Determinar en primer lugar el número de taxa que crecen en la región y definir el área de distribución de cada uno de ellos.
- ❖ Efectuar el análisis detallado de la morfología general, estructura y ultraestructura de las paredes de las megasporas y microsporas de estos taxa.
- ❖ Analizar cuáles de las características de sus esporas denotan adaptaciones al medio acuático o semiacuático.
- ❖ Detectar la presencia de híbridos realizando una discriminación entre organización y características estándar de las esporas, y las variaciones encontradas entre ellas.
- ❖ Analizar en qué medida se podría recurrir a las características palinológicas para la determinación de los taxa a diferentes niveles jerárquicos.

## 1. 5. Características del fenómeno de la heterosporía

---

Para la identificación de la heterosporía en un grupo vegetal el evento determinante es la presencia de gametofitos dioicos, productores de gametangios masculinos o femeninos.

Para los diferentes autores que se han ocupado del tema, la heterosporía puede comprender además otras características. Estas opiniones están resumidas en el trabajo de Bateman & DiMichele (1994), e incluyen fenómenos tales como la presencia de esporas de dos tamaños (anisosporía), esporangios dioicos, desarrollo de una sola megaspora y aborción de los otros miembros de la tétrade, retención del gametofio dentro de la megaspora (endosporía) o retención de la megaspora en el megasporangio

La detección de la heterosporía en fósiles puede inferirse generalmente solo por las diferencias morfológicas o estructurales de las esporas, ya que la esporopolenina que compone la esporodermis es resistente a las condiciones del proceso de fosilización.

La heterosporía ha sido alcanzada en distintos grupos vegetales a lo largo del tiempo. Se han podido detectar características relacionadas con este fenómeno en Barinophytales (Zosterophyllophyta) (Pettitt, 1965; Cichan et al., 1984), Lycophyta fósiles y actuales (Philips, 1979; Hemsley, 1993; Taylor, 1993), Sphenophyta fósiles y actuales (Bateman 1991; Baxter, 1964; Good, 1975; Duckett, 1970); Progymnospermopsida (Andrews et al., 1974; Pettitt, 1965; Chaloner & Pettitt, 1987) y en las plantas productoras de semillas (Pteridospermophyta, Gimnospermophyta y Magnoliophyta).

En las Filicophyta la heterosporía es un fenómeno poco común, o al menos poco detectado, ya que requiere el estudio del ciclo biológico completo, tarea aún no abarcada para todo el grupo (Bateman & DiMichele, 1994). Las esporas representan para los helechos la posibilidad de perpetuar la especie, manteniendo la variabilidad genética, tienen un importante papel en la dispersión y en algunos casos pueden permanecer viables por muchos años, logrando el mantenimiento o recuperación de las poblaciones a lo largo del tiempo (Estrelles et al. 2001).

Dentro de los helechos se reconoce una heterosporía poco desarrollada en *Platyzoma* (Polypodiaceae), donde dos tipos de esporas, con pocas diferencias de tamaño, producen gametofitos masculinos y otros potencialmente femeninos (Tryon 1961, 1964). En

*Ceratopteris* se observan gametofitos dioicos, sin diferencias de tamaño entre las esporas (Schedlbauer, 1976; Duckett & Pang, 1984), por lo cual podría considerarse una heterosporia no tan evidente.

Se consideran helechos verdaderamente heterosporados a las familias Azollaceae, Salviniaceae y Marsileaceae, las cuales producen dos tipos de esporangios, con dos clases de esporas que producirán gametofitos dioicos, hay endosporia y reducci3n del n3mero de megasporas a una sola (Bateman and DiMichele, 1994).

La germinaci3n de las esporas y la subsiguiente producci3n de gametofitos requieren en todos los helechos de la presencia de agua para llegar a la fecundaci3n, tanto por la escasa resistencia a la desecaci3n de la fase gametofitica como por la necesidad de un medio l3quido que favorezca el desplazamiento de los anterozoides hasta la ovoc3lula. En los helechos isosporados terrestres, el gametofito puede variar la proporci3n de anteridios y arquegonios que producirá y el momento en que estas estructuras serán desarrolladas de acuerdo a las condiciones ambientales. La proximidad de poblaciones de gametofitos provenientes de una misma planta madre, que a menudo pueden comunicarse a trav3s de se1ales qu3micas, aumentan las posibilidades de fecundaci3n.

Para las familias Azollaceae, Salviniaceae y Marsileaceae el h3bitat acuático ofrece un medio estable, donde los procesos de crecimiento del gametofito y la gametog3nesis no se ven afectados por la escasez h3drica. Sin embargo, el movimiento continuo y las posibilidades de ubicaci3n espacial dentro de la columna de agua presentan problemas para el encuentro de las gametas y la fecundaci3n. En estas familias la formaci3n de dos clases de esporangios restringe las posibilidades de producir diferentes tipos de gametangios de acuerdo a las condiciones del medio. El 3xito reproductivo en este grupo dependerá entonces de la estabilidad del ambiente, que es mayor en medios acuáticos o semiacuáticos.



## 1. 6. Consideraciones sobre la terminología empleada para la identificación y descripción de la esporodermis en el grupo de estudio

---

Para el estudio de las microsporas y megasporas de las familias Azollaceae, Salviniaceae y Marsileaceae se han seguido en este trabajo los conceptos propuestos por Lugardon (1972, 1974) y por Lugardon & Husson (1982) en relación a las características de las paredes. Para estos últimos autores existen dos paredes resistentes a la acetólisis en estas familias, estas son, de adentro hacia afuera, exosporio y episporio.

El exosporio es una pared continua, constituida por dos capas, una interna delgada y una externa de mayor espesor, con canales y cavidades en su parte más profunda.

La pared externa al exosporio, el episporio, presenta características particulares, que la diferencian del perisporio presente en las esporas producidas por los otros helechos. En ambos grupos, el exosporio es la primera pared en formarse.

El episporio se forma inmediatamente después del exosporio, en forma simultánea en todo su espesor, por lo que esta pared no presenta variaciones notables entre esporas en distintos estadios de maduración (Lugardon & Husson, 1982). El episporio es una pared moderadamente elástica, lo que le permite acompañar los cambios de volumen sufridos por la espora sin romperse fácilmente. Al observarse con microscopio electrónico de transmisión el episporio presenta un contraste semejante al de la parte superior del exosporio y se encuentra soldado a éste en varios puntos (Lugardon, 1996). Por encima de las lesuras el episporio presenta siempre algún tipo de modificación.

El perisporio se forma luego del exosporio y puede presentar varias capas, de formación sucesiva (Lugardon, 1996). Al ser una pared rígida es frecuente la ruptura o separación de los elementos que lo componen. La superficie del perisporio depende por lo tanto del estadio de desarrollo de la pared o de su integridad, ya que podría ser el resultado de la falta de alguna de las capas externas. Observado con microscopio electrónico de transmisión el perisporio presenta un contraste diferente al del exosporio.

En las descripciones de la esporodermis se ha empleado el término “lacunoso”, aplicado en el sentido de una estructura no compacta, con grandes espacios o cavidades internas. El término “alveolar” podría ser utilizado en su lugar en algunos casos, pero se ha

decidido reservar esta denominación para la estructura de la pared de granos de polen de Gimnospermas, como propusiera Van Campo (1971).

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

---

Para cumplir con los objetivos propuestos en esta Tesis, en primer lugar fue necesario identificar que especies de Filicophyta heterosporadas crecen dentro del área de estudio. Como parte de la puesta al día de la diversidad dentro de la región se determinó el área de distribución de cada una de ellas. Se obtuvieron ejemplares de las especies a estudiar y se separó el material palinológico. Las esporas se trataron con diversos protocolos de acuerdo al medio utilizado para su observación (microscopio óptico, electrónicos de barrido y de transmisión). Se tomaron mediciones y registros fotográficos. Finalmente se confeccionaron las descripciones palinológicas y se organizaron las imágenes que resultaron más informativas en láminas que ilustraron la presente Tesis. Los pasos seguidos se detallan a continuación.

## 2.1. Taxa presentes en el área de estudio

---

El número de especies de Filicophyta heterosporadas que crecen dentro del área de estudio se precisó en base a una revisión bibliográfica que incluyó la consulta de Floras regionales, catálogos y trabajos específicos y al estudio de los especímenes de las colecciones en diferentes herbarios.

Se sometieron a análisis las determinaciones existentes y se procedió a la determinación del material de herbario no identificado previamente. Para llevar a cabo esta tarea se utilizó el método tipológico, teniendo en cuenta los caracteres del ejemplar tipo y sus descripciones originales.

## 2.2. Área de distribución de cada taxón

---

La delimitación del área de distribución de cada taxón se realizó en base a los datos de colección de los ejemplares de herbario consultados y a la información disponible en la bibliografía (catálogos, floras).

En base a estos datos se confeccionaron mapas de distribución. Se utilizó un mapa base que contempló la división política en provincias, departamentos o estados de los países incluidos en la región de estudio. Para dibujar las áreas de distribución la presencia de cada

especie se representó como un punto en cada una de las divisiones del mapa. En la presentación final se omitieron las subdivisiones políticas, manteniendo únicamente los límites de los países.

Los mapas presentados pueden considerarse como áreas máximas de distribución histórica de las especies.

## 2.3. Estudio del material

---

### 2.3.1. Obtención de los ejemplares estudiados

Se utilizó material seco proveniente de Herbarios nacionales y extranjeros.

Los herbarios consultados se indican con las siglas correspondientes a las utilizadas por Holmgren et al. (1990).

**BA** (Herbario del Museo de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Ciudad Autónoma de Buenos Aires)

**BAB** (Herbario de INTA Castelar, Prov. de Buenos Aires)

**CTES** (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)

**CTESN** (Herbarium Humboldtianum, Corrientes)

**LP** (Herbario del Museo de Ciencias Naturales de La Plata)

**PACA** (Instituto Anchietano de Pesquisas/UNISINOS, São Leopoldo, RS, Brasil)

**SI** (Herbario del Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)

En los casos en que los ejemplares de herbario carecían de algunos de los parámetros de identificación se utilizaron las siguientes siglas en las citas del material estudiado:

s.n. Sin identificación del colector

s.n° Sin número de ejemplar registrado

s.f. Sin fecha de colección precisada

s.l. Sin precisión sobre el lugar de colección

La lista de ejemplares estudiados se encuentra a continuación de los resultados correspondientes a cada especie.

### **2.3.2. Tratamiento del material**

#### **a- Obtención de las esporas**

Los especímenes estudiados fueron observados con microscopio estereoscópico para reconocer las estructuras reproductivas. El procedimiento para separar el material fértil fue diferente, según las características de cada grupo.

Así, en los ejemplares de la familia Marsileaceae se separaron los esporocarpos maduros, identificados por la ausencia de pelos, característicos de estadios más tempranos del desarrollo. Los esporocarpos fueron colocados en agua destilada hasta el inicio del ablandamiento de la pared. Luego se escarificaron utilizando un bisturí y se mantuvieron en agua destilada hasta su apertura y posterior liberación de las esporas. Las megasporas y microsporas se manipularon utilizando un pincel fino.

En *Azolla* y *Salvinia* los megasporangios se colocaron en agua destilada durante 30 minutos y luego bajo observación en el microscopio estereoscópico se separaron las megasporas de la pared del megasporangio utilizando agujas de disección. Los microsporangios se colocaron en agua destilada durante 30 minutos, luego la pared se desgarró con la ayuda de agujas de disección, con el fin de liberar las másulas de su interior. Las megasporas y másulas se manipularon utilizando un pincel fino.

Las megasporas de *Salvinia minima* y las másulas de *Salvinia auriculata* fueron separadas de la pared del esporangio haciéndolas rodar suavemente sobre cinta bifaz.

#### **b- Estudio con Microscopio Óptico**

Las observaciones se realizaron sobre material sin tratamiento químico previo. En el caso de megasporas y másulas de *Salvinia*, se utilizó la técnica de acetólisis de Avetisian (1950). Este procedimiento se realizó de la siguiente manera: en un portaobjetos excavado se colocaron las esporas a tratar y se depositaron una o dos gotas de solución acetolítica. Luego se calentaron sobre llama durante 1 ó 2 minutos, cuidando de que no llegara a ebullición.

En todos los casos las esporas fueron montadas en portaobjetos con gelatina-glicerina o en portaobjetos excavados con glicerina. Las observaciones se realizaron en microscopios Olympus BH-B, Olympus BH-2 y Nikon E-200.

### **c- Estudio con Microscopio Electrónico de Barrido**

Las esporas no recibieron ningún tratamiento previo a la observación con MEB. Fueron montadas con la ayuda de agujas histológicas o pinceles finos sobre cinta bifaz en tacos portaespecímenes de bronce y bañadas con oro para su observación.

Las megasporas de todos los taxa, así como las másulas, fueron seccionadas bajo observación en el microscopio estereoscópico utilizando hojas de acero o bisturí.

En microsporas de Marsileaceae las esporas liberadas en el agua destilada se retiraron con un pincel fino, se colocaron sobre una superficie absorbente y se dejaron expuestas al aire. Posteriormente se transfirieron a la cinta bifaz con un pincel. En algunos casos este tratamiento ocasionó la fractura espontánea de la pared, permitiendo el estudio de la estructura.

Las observaciones se realizaron con un microscopio JEOL JSM-6360LV en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.

### **d- Estudio con Microscopio Electrónico de Transmisión**

El material seco proveniente de herbarios fue tratado utilizando la metodología propuesta por Rowley & Nilsson (1972) como sigue: se realizó una hidratación con buffer de fosfato con 1% Alcian Blue (AB), posteriormente el material fue fijado con glutaraldehído + 1% AB en buffer de fosfato por 12 horas, lavado con buffer de fosfato y postfijado con 1% OsO<sub>4</sub> en agua + 1% AB en buffer fosfato. Las esporas se deshidrataron en serie de acetona (30%, 50%, 80%, 100%) y luego se incluyeron en resina Spurr de dureza media (Spurr, 1969).

Se realizaron cortes semifinos para análisis, medición y registro panorámico de megasporas y microsporas con microscopio óptico. Para estos fines los cortes de 3 µm de espesor se tiñeron con azul de toluidina 0 a pH 4,5. Los cortes finos obtenidos con ultramicrotomo para observación con MET se montaron sobre grillas de oro u acero inoxidable y fueron tratados con acetato de uranilo por 15 minutos, seguido por citrato de plomo por 3 minutos.

Los cortes delgados fueron analizados en los microscopios Zeiss EM 109-Turbo y Zeiss EM10 C en el Laboratorio Nacional de Investigación y Servicios (LANAIS/CONICET) de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Buenos Aires.

### **e-Mediciones**

Las mediciones de las mega-, microsporas y másulas se efectuaron al microscopio óptico sobre un número mínimo de 20 de cada ejemplar examinado.

La estimación de las medidas a nivel estructural se realizó sobre registros de fracturas o cortes obtenidos con microscopio electrónico de barrido, sobre no menos de cinco esporas estudiadas de cada ejemplar examinado.

La estimación de medidas a nivel ultraestructural fue llevada a cabo sobre registros obtenidos con microscopio electrónico de transmisión con aumentos de 2500x - 90000 x sobre muestras tomadas en uno o dos ejemplares examinados por taxón. En las megasporas de *Pilularia americana* se realizaron observaciones con la modalidad de bajo aumento, a 300x.

### **f- Conservación de los preparados**

Los preparados para estudio con microscopía óptica, los tacos de bronce para microscopía electrónica de barrido y las grillas metálicas con cortes finos efectuados con ultramicrotomo y teñidos para estudios con microscopía electrónica de transmisión se conservan bajo su número de colector o de herbario correspondiente en la Colección de la Cátedra de Palinología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata.

## **2.4. Ilustraciones**

---

Las ilustraciones se realizaron en base a fotografías obtenidas con los distintos medios de observación utilizados. Las imágenes con microscopía óptica se obtuvieron con una cámara digital Nikon Coolpix S10 en microscopio Nikon E-2000.

Las imágenes al microscopio electrónico de barrido se obtuvieron digitalmente con el equipo fotográfico del microscopio JEOL JSM-6360LV del Laboratorio de Microscopía



Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.

Las imágenes del microscopio electrónico de transmisión se obtuvieron con la cámara de 35 mm incluida en los microscopios Zeiss EM 109-Turbo y Zeiss EM10 C del Laboratorio Nacional de Investigación y Servicios (LANAIS/CONICET) de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Buenos Aires. Se utilizó película positiva Kodalith y Kodak 5302.

Las fotografías se organizaron en láminas utilizando el programa Corel Draw 12.

## 2.5. Terminología

---

En las descripciones de la morfología de las esporas se siguió en general la terminología propuesta por Erdtman (1960). Para el análisis de la estructura de las paredes de las esporas se siguió la terminología propuesta por Lugardon (1972, 1974), Lugardon & Husson (1982) y Tryon & Lugardon (1991).

Para ciertas características particulares de la morfología de las megasporas del grupo estudiado se han utilizado términos definidos por otros autores, los cuales se aclaran en las secciones correspondientes del texto y en el Glosario.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### 3.1. AZOLLACEAE

---



### 3.1.1. Consideraciones generales

---

Esta familia posee un solo género, *Azolla* Lam., ampliamente distribuido en el mundo. En el presente trabajo se ha adoptado el esquema taxonómico de Evrard & Van Hove (2004), quienes revisaron la bibliografía existente referida a las especies de *Azolla* presentes en América y concluyeron que podían determinarse solamente dos especies: *Azolla filiculoides* Lam. y *A. cristata* Kaulff. Un estudio filogenético reciente (Metzgar et al., 2007) confirma el status de esta familia como grupo monofilético. Son plantas acuáticas flotantes, de muy pequeño porte. Su hábitat son los cuerpos de agua con baja energía, como lagunas, estanques, charcas o áreas de remanso en ríos y arroyos.

Los primeros registros fósiles asignados al género pertenecen al Cretácico superior.

*Azolla* ha sido objeto de numerosos estudios principalmente por su aplicación agrícola. La introducción de poblaciones de *Azolla* se utiliza en las plantaciones de arroz como fertilizante, principalmente en Asia. Esta práctica se fundamenta en la asociación simbiótica de *Azolla* con la cianofita *Anabaena azollae*, fijadora de nitrógeno (Moore, 1969).

De acuerdo al esquema taxonómico de Saunders & Fowler (1993) el género *Azolla* se subdivide en dos subgéneros, *Azolla* y *Tetrasporocarpia*. El subgénero *Azolla* incluye dos secciones: *Azolla* y *Rhizosperma*. Las especies americanas de *Azolla* se ubican dentro del subgénero *Azolla*, sección *Azolla*. Esta sección se caracteriza por las megasporas con tres flotadores y las másulas con gloquidios de extremos en forma de ancla.

La determinación a nivel específico dentro del género no es sencilla, debido al reducido tamaño del esporofito. En general se reconoce que los caracteres diagnósticos serían los tricomas foliares, la superficie de las megasporas y las características de los gloquidios. Hasta el momento se discute si alguno de estos caracteres puede considerarse diagnóstico tomado individualmente (Evrard & Van Hove, 2004). Metzgar et al. (2007) consideran que en América se encuentran más de dos especies, éstas serían: *A. filiculoides*, *A. carolinina*, *A. mexicana* y *A. microphylla*, si bien las tres últimas pertenecerían a un complejo y estarían estrechamente relacionadas.

Los estudios sobre las especies americanas se ven dificultados además porque mucho del material de herbario no está correctamente determinado (Evrard & Van Hove, 2004; Metzgar et al., 2007).

Bonnet (1957) analizó en *Azolla filiculoides* las estructuras vegetativas y reproductivas, incluyendo estudios de desarrollo de mega- y microsporas y de embriogénesis.

Di Fulvio (1956, 1961) estudió con microscopía óptica la morfología y estructura de las megasporas de las especies de *Azolla* presentes en América. La autora señaló la presencia de ejemplares que presentaban combinaciones de caracteres que eran considerados diagnósticos para cada una de las especies, y sugirió que podría tratarse de híbridos interespecíficos.

Las características morfológicas y ultraestructura de la pared de las megasporas de *Azolla filiculoides* y la morfología de las megasporas de *A. cristata* fueron observadas con MO y MEB por Martin (1976a).

Fowler & Stennett-Willson (1978) estudiaron la morfología y ultraestructura de las megasporas de *Azolla microphylla*, (= *A. cristata*) de Honduras y de *Azolla filiculoides*, provenientes del Reino Unido. Estos autores propusieron términos para describir las partes de las megaspora y sus estructuras accesorias.

Morbelli (1980) describió las megasporas, microsporas y másulas de *Azolla filiculoides* de la región patagónica (Argentina) con MO y MEB.

Tryon & Tryon (1982) describieron brevemente e ilustraron con MEB las megasporas y másulas de las especies de *Azolla* que se encuentran dentro de la región de estudio.

De la Sota (1985) enumeró las especies de *Azolla* presentes en la provincia de La Pampa (Argentina) y utilizó caracteres de la superficie de las megasporas y apéndices de las másulas en una clave para determinarlas.

Perkins et al. (1985) realizaron el estudio comparativo de las megasporas de todas las especies de *Azolla* reconocidas hasta ese momento. Analizaron con MEB la superficie y estructura de la esporodermis y concluyeron que ambos caracteres podrían ser de valor taxonómico.

Dunham & Fowler (1987) analizaron con MEB algunas características del sistema de la megaspora (superficie, estructura de la esporodermis) y de las másulas (superficie y particularidades de los apéndices) con la finalidad de detectar caracteres diagnósticos a nivel específico. Para estos autores, algunos ejemplares presentarían caracteres intermedios entre los de las especies reconocidas, y podrían ser híbridos interespecíficos.

Tryon & Lugardon (1991) analizaron al MEB las mega- y microsporas de *Azolla filiculoides*, sobre material proveniente de Uruguay y Brasil. Además incorporaron estudios de ultraestructura y desarrollo de las esporas de esta especie al MET, con material de Francia.

Las megasporas presentan una gran complejidad morfológica, con una serie de estructuras ubicadas sobre la cara proximal: collar, columna y flotadores. A este conjunto se lo ha denominado en trabajos previos “aparato de la megaspora” (Hall, 1974; Fowler & Stennett-Willson, 1978; Saunders & Fowler, 1993) o “complejo de la megaspora” (Sweet & Chandrasekharam, 1973).

La terminología utilizada en esta Tesis para describir la pared de las megasporas de *Azolla* se compara con la empleada por otros autores con el fin de facilitar el reconocimiento y de contrastar los resultados (Tabla 1).

**Azollaceae** Wettstein, Handb. Syst. Bot. 2:77. 1903

***Azolla* Lamarck**, Encycl. Méthod. Bot. 1: 343, 1783.

Especie tipo: *Azolla filiculoides* Lam.

Plantas acuáticas pequeñas, flotantes, usualmente formando carpetas en aguas calmas. Rizomas cortos, sifonostélicos, con raíces numerosas. Frondes bilobadas, el lóbulo superior fotosintético, flotante y el inferior hialino, sumergido, con cavidades abaxiales que contienen a la cianofita *Anabaena*. Soros cortamente pedicelados, ubicados en el lóbulo inferior de la fronde, encerrados por un indusio, conteniendo un megasporangio o varios microsporangios. Los megasporangios contienen una sola megaspora trilete, con estructuras accesorias: columna, collar y flotadores. Los microsporangios contienen microsporas triletas (8 a 24) reunidas en másulas. Descripción adaptada de Tryon & Tryon (1982) y de Cabrera y Zardini (1993).

### 3.1.2. Organización general

---

#### **Complejo de la megaspora**

En *Azolla* se observa un sistema complejo, integrado por la megaspora en la parte basal, el collar, una columna central y flotadores en su parte media y una proyección apical, que frecuentemente está expandida en forma de embudo (Figura III).

Sobre la cara proximal de la megaspora se encuentra un reborde, generalmente denominado collar, que sigue el contorno de la megaspora. Este posee tres elevaciones dispuestas simétricamente hacia su parte superior. Por encima del collar, y en posición central se encuentra una proyección cónica o piramidal denominada columna, de estructura lacunosa. La superficie de la columna está cubierta por cordones. En el ápice de la columna se encuentra una estructura que se dispone en forma de embudo, constituida por cordones entrelazados. Una porción de la pared del megasporangio, de consistencia membranosa, queda con frecuencia adherida al ápice de la columna cuando la megaspora se separa del megasporangio. Los flotadores, en número de tres, son de contorno circular a oval y superficie perforada; se encuentran sobre el collar, dispuestos simétricamente alrededor de la columna. Los flotadores están unidos a la columna central por medio de cordones en la parte superior de su cara interna. En su parte basal se apoyan y son retenidos por el margen superior del collar.

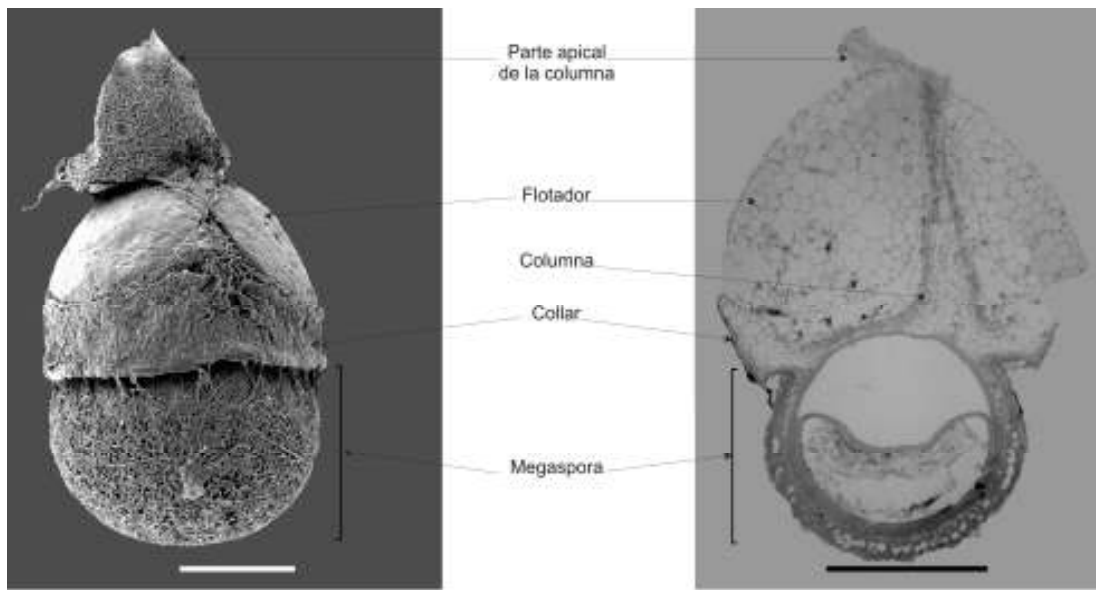


Figura III. Partes que integran el complejo de la megaspora. Izq.: fotomicrografía al MEB. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . Der.: megaspora en sección, fotomicrografía al MO. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Azolla cristata* (Capurro 56461).

### Másulas y microsporas

Dentro de cada microsporangio se encuentra un número variable (4 - 9) de másulas. Cada másula (Figura IV) contiene un número variable de microsporas (8 - 24), y actúa como una unidad de dispersión. En la superficie de la másula se encuentran los gloquidios. Estos constan de un cuerpo alargado, más angosto hacia su base, con un ápice con expansiones en forma de ancla (Figura V). Debajo del ápice, el cuerpo del gloquidio posee un ensanchamiento. La estructura de la másula es lacunosa, con alvéolos de diferentes dimensiones; dentro de algunos de estos alvéolos se alojan las microsporas.





Figura IV. Másula observada con MEB. Esquema de las medidas tomadas en el cuerpo de la másula: Eje A: longitud; eje B: altura. Uno de los gloquidios está indicado (flecha). Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Azolla filiculoides* (Job 1358).

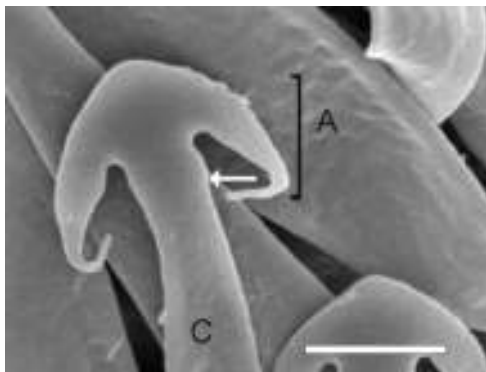


Figura V. Parte apical de un gloquidio. Se observa parte del cuerpo (C) y el ápice (A). Por debajo del ápice se observan un ligero ensanchamiento del cuerpo (flecha). Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Azolla filiculoides* (Meyer 4131).

<b>Gardenal 2009</b>	<b>Bonnet 1957</b>	<b>Di Fulvio 1961</b>	<b>Martin 1976</b>	<b>Fowler &amp; Stennett Wilson 1978</b>	<b>Morbelli 1980</b>	<b>Perkins 1985</b>	<b>Collinson 1991</b>	<b>Tryon &amp; Lugardon 1991</b>	<b>Evrard &amp; Van Hove 2004</b>
Episporio externo	Capa densa	Episporio externo	Mesoperina Exoperina	Exoperina 1 Exoperina 2	Perisporio	Exoperina 1 Exoperina 2	Exoperina	Episporio externo	Perina
Episporio interno	Capa espumosa	Episporio interno	Endoperina	Endoperina		Endoperina	Endoperina	Episporio interno	
Exosporio	Exosporio	Pared de la macrospora	Esporodermis	Exina	Exosporio	Exina	Exina	Exosporio	-----

Tabla 1. Tabla comparativa de la terminología utilizada por distintos autores en la descripción de la pared de las megasporas de *Azolla*

### 3.1.3. *Azolla cristata*

---

*Azolla cristata* Kaulfuss, Enum. Fil.: 274, 1824.

Tipo: Guyana, Demerary, (in herb. Kaulf. M.)

*Azolla caroliniana* auct. non Willd.

*Azolla microphylla* Svenson non Kaulf., Am. Fern J. 34: 82 - 84, 1944

*Azolla portoricensis* Spreng., Syst. Veg. 1: 9, 1827.

*Azolla mexicana* K. Presl., Abh. Böhm. Ges. Wiss. V, 3: 150, 1845.

#### **Sistema de la megaspora** (Lám. 1; lám. 2; lám. 3; lám. 5, fig. A)

El sistema de la megaspora posee una longitud total de 427 – 560  $\mu\text{m}$  (Lám. 1; lám. 2, figs. A – D; lám. 3, fig. A).

Las esporas son triletes, de 165.8 – 188.6  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 235.5 – 354.8  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial. En vista ecuatorial la cara distal es hemisférica y la cara proximal es convexa (Lám. 3, fig. A). La superficie es reticulada (Lám. 2, figs. E-G) y este retículo forma lomos en la cara distal (Lám. 2, figs. C, D). A través de ciertos lúmenes emergen largos cordones de sección circular, de 0.8  $\mu\text{m}$  de diámetro.

#### *Esporodermis* (Lám. 3, fig. B; lám. 5, fig. A)

Exosporio: es de 4.5  $\mu\text{m}$  de espesor. En las fracturas observadas al MEB es de aspecto compacto. Al TEM (Lám. 5, fig. A) se observa que la estructura es lacunosa en todo su espesor, en algunos lugares más compacta, constituida por cordones fusionados. En algunos puntos se observa una continuidad entre estos cordones y los del episporio interno (Lám. 5, fig. A).

Episporio: Tiene un espesor total de 9 - 17  $\mu\text{m}$  y está integrado por dos capas (Lám. 3, fig. B; lám. 5, fig. A).

La interna es de 4.3 – 6.8  $\mu\text{m}$  de espesor, de estructura lacunosa. Al MET se observa que está formada por cordones semejantes a los que constituyen el exosporio, pero de menor diámetro (100 – 200 nm), unidos de manera más laxa. En su extremo distal los elementos de esta capa se continúan con los de la capa externa de la misma pared.

El episporio externo tiene un espesor de 4.5 – 9.7  $\mu\text{m}$ . Está formado por gruesos cordones que se ramifican hacia la superficie, fusionándose a diferentes niveles.

En sección se observa que hay cordones más delgados, de 0.8  $\mu\text{m}$  de diámetro, que emergen atravesando los espacios entre los elementos estructurales del episporio externo. Los cordones podrían ser las estructuras observadas en la parte más profunda del episporio externo, de sección circular (Lám. 3, fig. B; lám. 5, fig. A).

*Estructuras accesorias* (Lám. 1; lám. 2, figs. A – D; lám. 3, figs. A, C, D, F)

El collar está ubicado sobre el área proximal de la megaspora, es de 62.8 – 90.4  $\mu\text{m}$  de altura y su superficie es rugulada (Lám. 2, figs. A- D). En sección (Lám. 3, figs. A, C) se observa que su estructura es lacunosa. En el área sobre la cual se apoyan los flotadores, la superficie del collar está cubierta por cordones.

La columna se encuentra sobre la parte central del collar, es 136  $\mu\text{m}$  de alto, de estructura lacunosa (Lám. 1; lám. 3, figs. A, D) con cordones en su periferia. En la sección vista con MO (Lám. 1), en el interior de la columna se observan espacios que configuran un canal central a lo largo de la estructura. El extremo apical de la columna está formado por un conjunto de cordones entrelazados (Lám. 1; lám. 2, fig. A).

Los flotadores, en número de tres, se disponen simétricamente alrededor de la columna central. La base de los flotadores queda apoyada sobre el margen del collar. Son de contorno oval, de 135-190  $\mu\text{m}$  de altura y 81.9 – 150  $\mu\text{m}$  de ancho (Lám. 1; lám. 2, figs. A - D; lám. 3, figs. A,C, F). En sección, son de estructura lacunosa. La superficie de los flotadores presenta escasas perforaciones (Lám. 3, fig. A) y cordones que los conectan con la columna central (Lám. 3, fig. F).

**Másulas** (Lám. 4)

Se encuentran entre 4 y 8 másulas por microsporangio. Poseen una cara plana que se encuentra orientada hacia el interior del microsporangio y una cara convexa ubicada hacia la superficie (Lám. 4, figs. A, B). Son de 97.5 - 165  $\mu\text{m}$  de altura y 150 – 212.5  $\mu\text{m}$  de longitud. Su superficie es verrucosa-baculada, con perforaciones (Lám. 4, figs. C, D), sobre ella se encuentran gloquidios, localizados principalmente en la cara aplanada de la másula (Lám. 4, figs. B, E). La longitud total de los gloquidios es de 62.5 - 90  $\mu\text{m}$ , el pie de los gloquidios

posee de tres a ocho septos y se ensancha lateralmente antes del extremo, que tiene forma de ancla (Lám. 4, fig. E).

En sección, la másula posee una o dos cavidades centrales de mayor tamaño y otras numerosas, menores, en la periferia. Dentro de algunas de las cavidades periféricas se alojan las microsporas, en número de 8 a 24 por másula (Lám. 4, fig. E).

### **Microsporas** (Lám. 4, fig. F; lám. 5, figs. B – D)

Son triletes, esferoidales, de 13 - 33  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 5, fig. B). Cada lesura es de 6 – 9  $\mu\text{m}$  de longitud. La superficie es rugulada (Lám. 4, fig. F).

### *Esporodermis* (Lám. 5, figs. B – D)

Exosporio: en los cortes observados al MET se observa un margen irregular; el espesor es de 0.6 – 1  $\mu\text{m}$  (Lám. 5, figs. B – D). En sección presenta una capa interna delgada, fuertemente osmiofílica y una capa externa con numerosos canales con contenido osmiofílico, anastomosados, dispuestos en forma de arcos (Lám. 5, fig. D). En la lesura el exosporio llega a un espesor de 1.5 $\mu\text{m}$  (Lám. 5, figs. B, C). En los sectores distal y ecuatorial de la microspora se observa que el exosporio está soldado en algunos puntos a la estructura lacunosa de la másula. En la parte proximal el exosporio está separado de la másula, aunque hay elementos de ésta adheridos a la lesura (Lám. 5 fig. C).

Observaciones: En los ejemplares analizados se han observado variaciones en las características del retículo que constituye la estructura y la escultura de la pared de las megasporas. Se observó una variación en el grosor y altura de los muros y en la densidad y distribución de los cordones que se encuentran en la superficie (Lám. 2, figs. E – G).

En el ejemplar *Tur 1372* se observaron másulas sin una cavidad principal, sino compuestas por alvéolos aproximadamente isodiamétricos. Estas másulas poseen gloquidios sin septos.

### **Distribución**

La especie es de amplia distribución en América, desde el centro de Estados Unidos, América Central y del Sur, llegando su límite austral hasta las provincias de Buenos Aires y

La Pampa (Argentina). La presencia de esta especie se registra desde el nivel del mar hasta alturas de 3500 a 4000 m s. m. en Cochabamba (Bolivia). En el Cono Sur la especie se ha citado en las siguientes regiones (Fig. VI):

**Argentina:** provincias de Jujuy, Salta, Chaco, Catamarca, Tucumán, Santa Fe, Mendoza Buenos Aires, La Pampa.

**Bolivia:** departamentos de La Paz, Santa Cruz, Cochabamba.

**Brasil:** estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul.

**Paraguay:** departamentos de Chaco Paraguayo, Boquerón, Presidente Hayes, Ñeembucú.

**Uruguay:** departamento de Montevideo.

***Material estudiado:***

**ARGENTINA:** **Catamarca**, Río de Guayamba, 01/08/1924, *Venturi 3470* (BAB). **Chaco**, Fontana, 06/1931, *Meyer 23* (SI). Dto. Tapenaga, s.f., *Rodrigo 2415* (LP). **Corrientes**, Dto. Mburucuyá, Ea. Sta. Teresa, 28/11/1951, *Pedersen 1357* (LP). **Mendoza**, Ea. El Sosneado, 23/01/1943, *Bartlett 19461* (SI). **Santa Fe**, Dto. Vera, Las Gamas, 23/09/1983, *Gammero 27683* (SI). Dto. Vera, Las Gamas, 09/1924, *Herter 71350* (SI). Dto. Capital, Lag. Los Espejos, 27/11/1970, *Tur 1372* (LP). **Salta**, Tartagal, camino a San Pedro, km 6, 25/03/1954, *Capurro 56461* (BA).

**BRASIL:** **Rio Grande do Sul**, s.l., 1906, *Rosenstock 229* (SI).

**PARAGUAY:** **Chaco**, Isla Poi, 08/1934, *Rojas 7014* (SI). Pto. Buenos Aires, sector Pilcomayo, 09/1938, *Rojas 8341* (SI).

**URUGUAY:** **Montevideo**, Ao. Carrasco, 12/1924, *Herter s.n°* (SI)

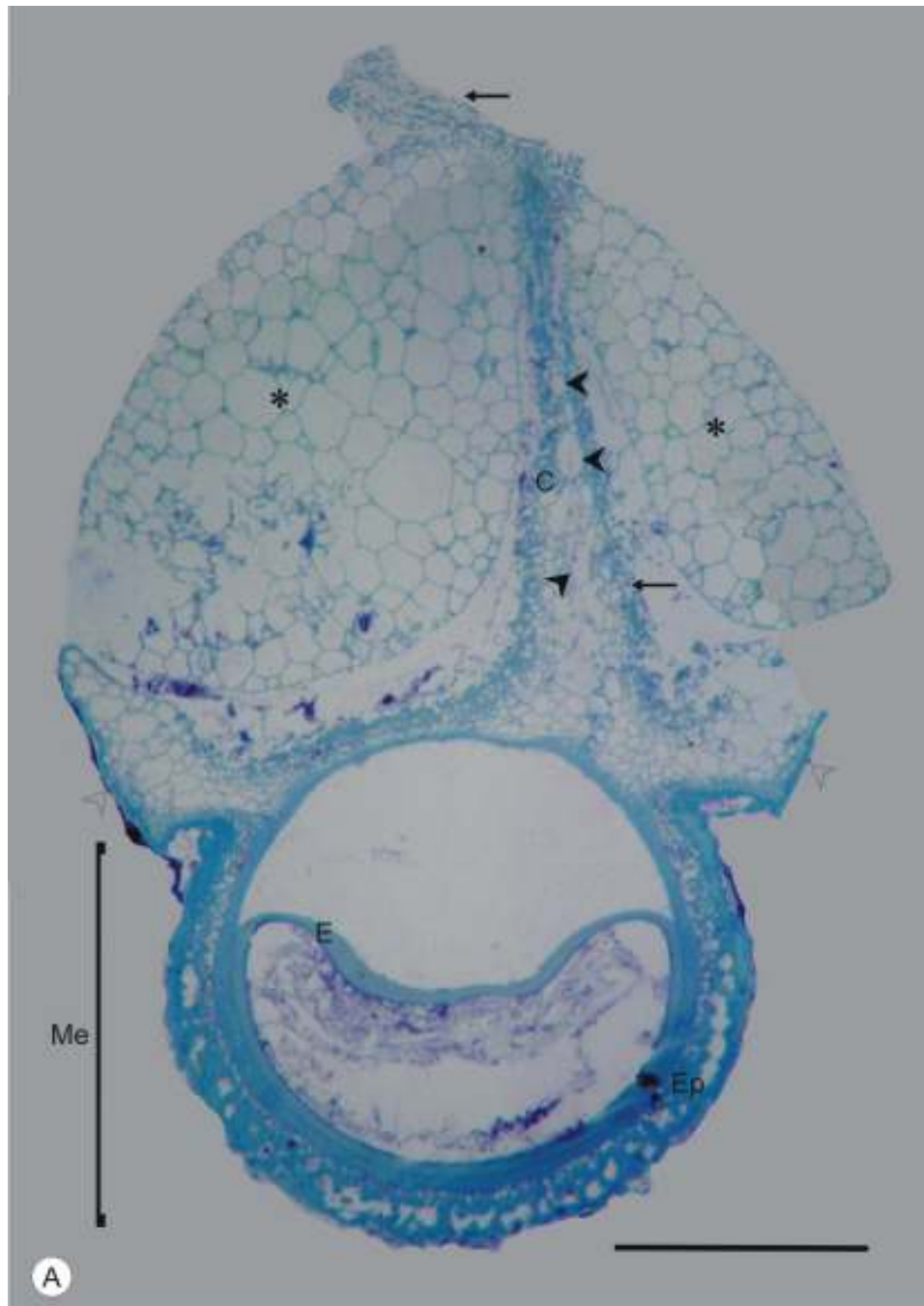


LÁMINA 1. Sección del sistema de la megaspora de *Azolla cristata* Kaulf., observado con MO

A- En la parte inferior de la fotomicrografía se observa la megaspora (Me), en la pared se observan el exosporio (E) parcialmente contraído en la parte proximal y el episporio (Ep). Sobre el área proximal de la megaspora se encuentra el collar (puntas de flecha transparentes). La columna (C) presenta estructura lacunosa, con espacios que determinan un canal (puntas de flecha) y con cordones sobre su superficie y en el ápice (flechas). Sobre el collar y alrededor de la columna se encuentran los flotadores (asteriscos), sólo dos de ellos son visibles en la imagen. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . Coloración: Azul de Toluidina. *Capurro 56461* (BA)



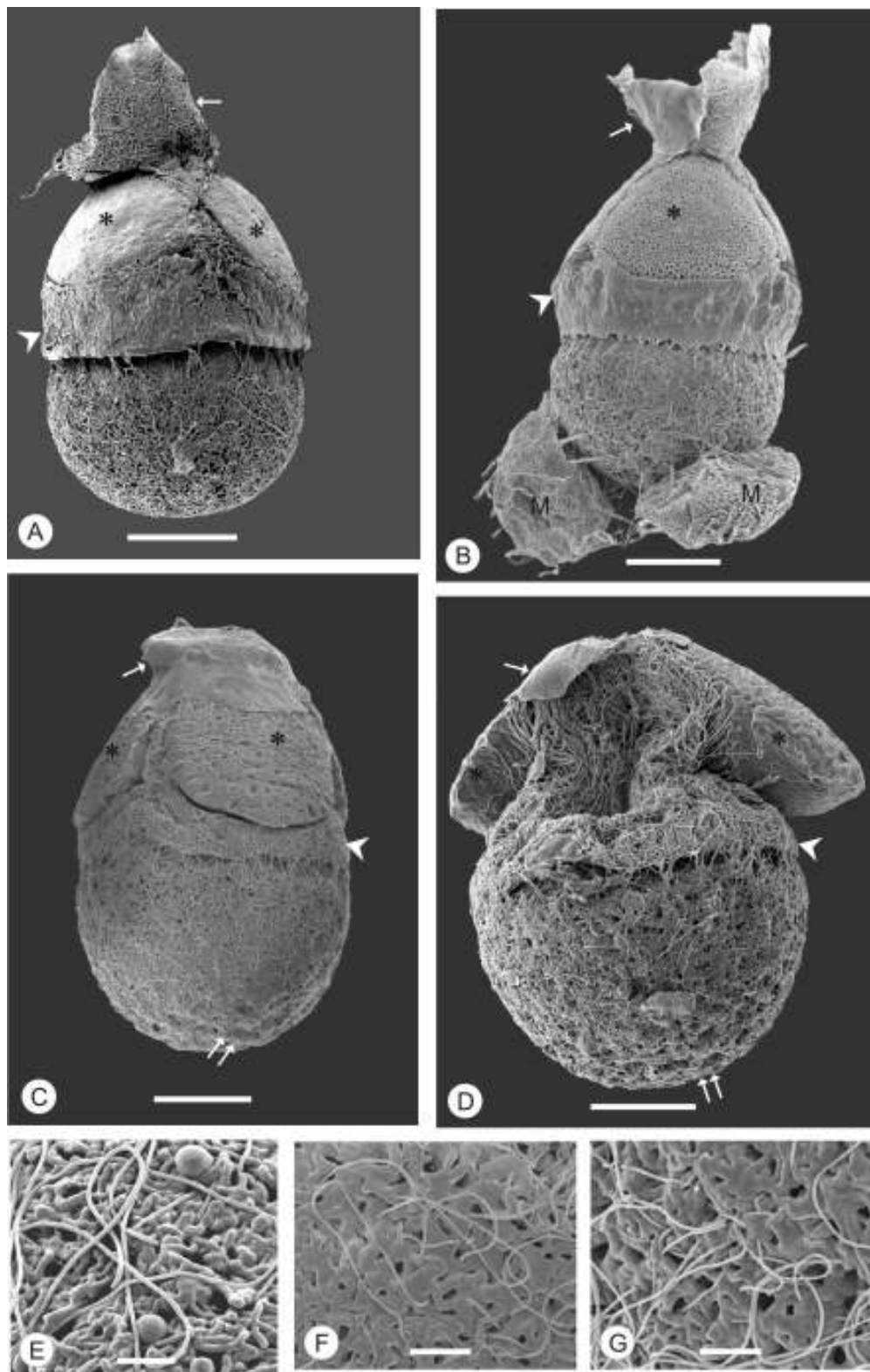


Lámina 2

LÁMINA 2. Sistema de la megaspora de *Azolla cristata* Kaulf. observado con MEB.

Las fotomicrografías de los sistemas de la megaspora se encuentran a la misma escala, para hacer comparables sus dimensiones. Las imágenes de la superficie de las megasporas también se encuentran a una misma escala.

- A- Sistema de la megaspora. La superficie de la megaspora es reticulada. Sobre la parte proximal de la megaspora se observa el collar (punta de flecha), dos de los flotadores (asteriscos) y el ápice de la columna, formado por cordones (flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Capurro 56461* (BA).
- B- Megaspora con dos másulas adheridas (M). La superficie de la megaspora es reticulada. Sobre el polo proximal de la megaspora se encuentran las estructuras accesorias: el collar (punta de flecha), uno de los flotadores (asterisco) y hacia el extremo se observa el ápice de la columna (flecha), formado por cordones y con restos de la pared del megasporangio adheridos. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Rojas 8341* (SI).
- C- Sistema de la megaspora. La megaspora presenta una superficie reticulada, con lomos en el polo distal (doble flecha) y está cubierta por cordones. Sobre la cara proximal de la megaspora se observan las estructuras accesorias: el collar (punta de flecha), cubierto por cordones, dos de los flotadores (asteriscos) y la parte apical de la columna replegada sobre los flotadores (flecha), cubierta por los restos de la pared del megasporangio. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Tur 1372* (LP)
- D- Sistema de la megaspora. La megaspora presenta una superficie reticulada y lomos en el polo distal (doble flecha). Se observan las estructuras accesorias: el collar (punta de flecha) cubierto por cordones, dos de los flotadores (asteriscos), con numerosos cordones en su superficie interna y hacia la zona apical, parte de la pared del megasporangio adherida (flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Tur 1372* (LP).
- E- Detalle de la superficie reticulada de la megaspora de la fig. A, los muros que conforman el retículo son delgados y entre ellos quedan determinados lúmenes de diferentes diámetros. Hay cordones que emergen a través de algunos de los lúmenes. Se observan además cuerpos esféricos distribuidos irregularmente. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Capurro 56461* (BA).
- F- Detalle de la superficie de la megaspora en el ejemplar de la fig. B. La superficie es reticulada, los muros que conforman el retículo se disponen en un mismo plano. En

este caso los muros son de mayor grosor que los que se observan en la fig. E. Se observan cordones que emergen a través de algunos lúmenes. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Rojas 8341* (SI).

G- Detalle de la superficie de la megaspora del ejemplar de la fig. C. La superficie es reticulada, con muros de grosor intermedio en relación a los que se observan en las figs. E y F. Se observan cordones, que atraviesan los lúmenes del retículo. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Tur 1372* (LP).

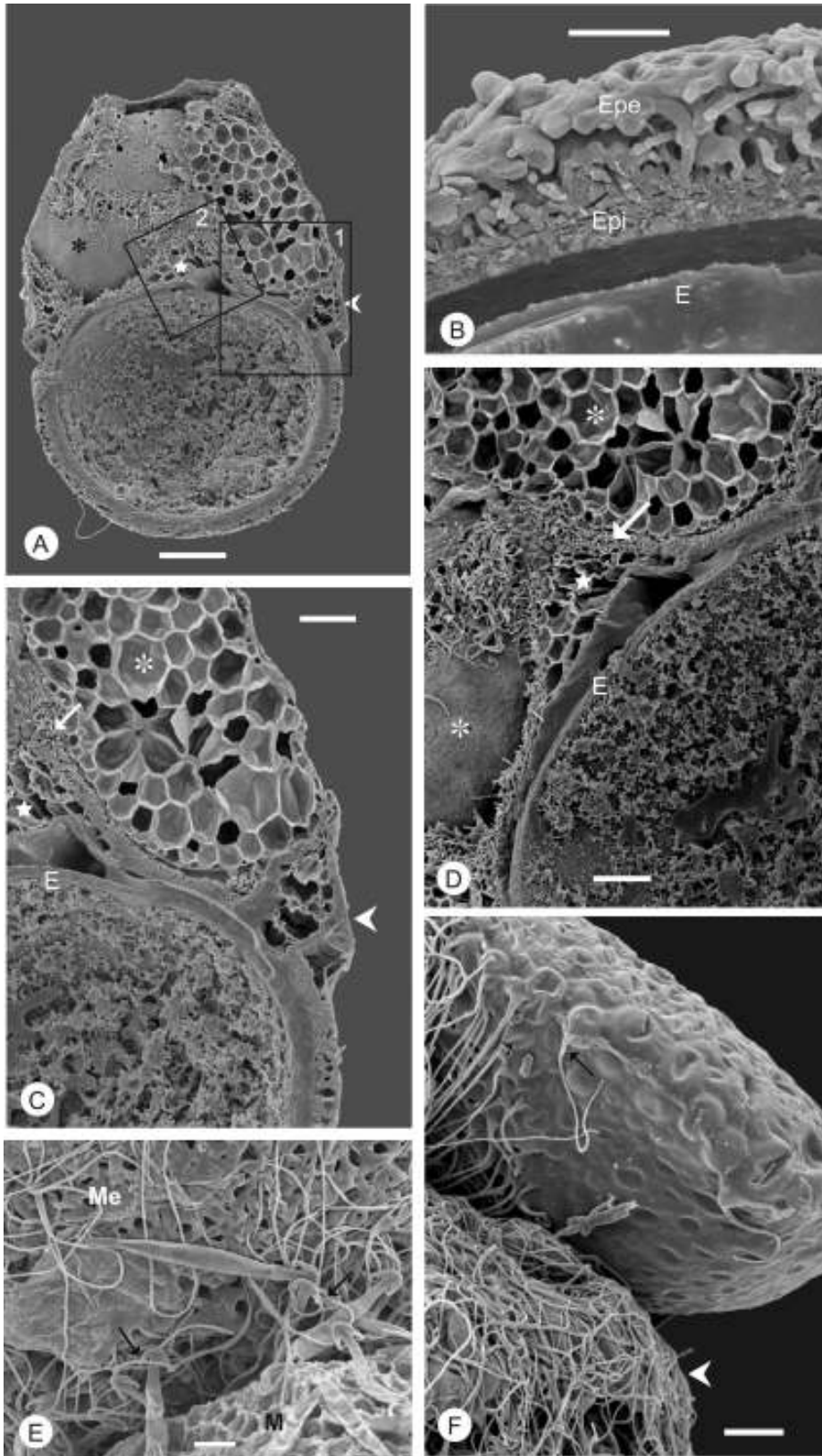


Lámina 3

LÁMINA 3. Sistema de la megaspora de *Azolla cristata* Kaulf. observado con MEB

- A- Sistema de la megaspora en sección. Sobre la cara proximal de la megaspora se observan las estructuras accesorias: collar (punta de flecha), columna (estrella) y dos de los flotadores (asteriscos), uno de ellos mostrando la superficie con perforaciones y el otro, ubicado hacia la derecha de la imagen, en sección, mostrando la estructura interna lacunosa. Áreas de los recuadros 1 y 2 ampliadas en las figs. C y D. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Capurro 56461*(BA).
- B- Megaspora, sección de pared. El exosporio (E) está separado del episporio, y se observa su superficie hacia la parte inferior de la imagen. En el episporio interno (Epi) se observan espacios y el episporio externo (Epe) presenta cordones de diferentes diámetros que se fusionan en distintos niveles y se disponen en forma más compacta hacia el exterior. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Rojas 8341* (SI).
- C- Detalle de la megaspora de la fig. A, área en el recuadro 1. En la parte inferior derecha de la imagen se observa un sector de la megaspora, parte del collar (punta de flecha), parte de la columna (estrella) y las partes media e inferior de uno de los flotadores (asterisco). El exosporio (E) está separado de las estructuras accesorias sobre el polo proximal de la megaspora. La columna es de estructura lacunosa y se observan cordones (flecha) en su periferia. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Capurro 56461* (BA).
- D- Detalle de la megaspora de la fig. A, área en el recuadro 2. En la parte inferior derecha de la imagen se observa un sector de la megaspora, con el exosporio (E). Por encima, se observa una porción de la columna (estrella) y la parte basal de dos de los flotadores (asteriscos). La columna es de estructura lacunosa y en su periferia hay cordones (flecha). El flotador ubicado a la derecha presenta perforaciones y cordones en la superficie. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Capurro 56461* (BA).
- E- Detalle de un sector de la fotomicrografía de la Lám. 2, fig. B. En el sector inferior, a la derecha se observa parte de una másula (M) con gloquidios que se entrelazan por su extremo (flechas) con los cordones de la superficie de la megaspora (Me). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Rojas 8341* (SI).
- F- Detalle de un sector del sistema de la megaspora ilustrada en la Lám. 2, fig. D. Se observa parte del collar (punta de flecha), cubierto por cordones y por encima uno de

los flotadores, con cordones sobre su superficie interna (flecha). Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Tur*  
*1372 (LP)*.

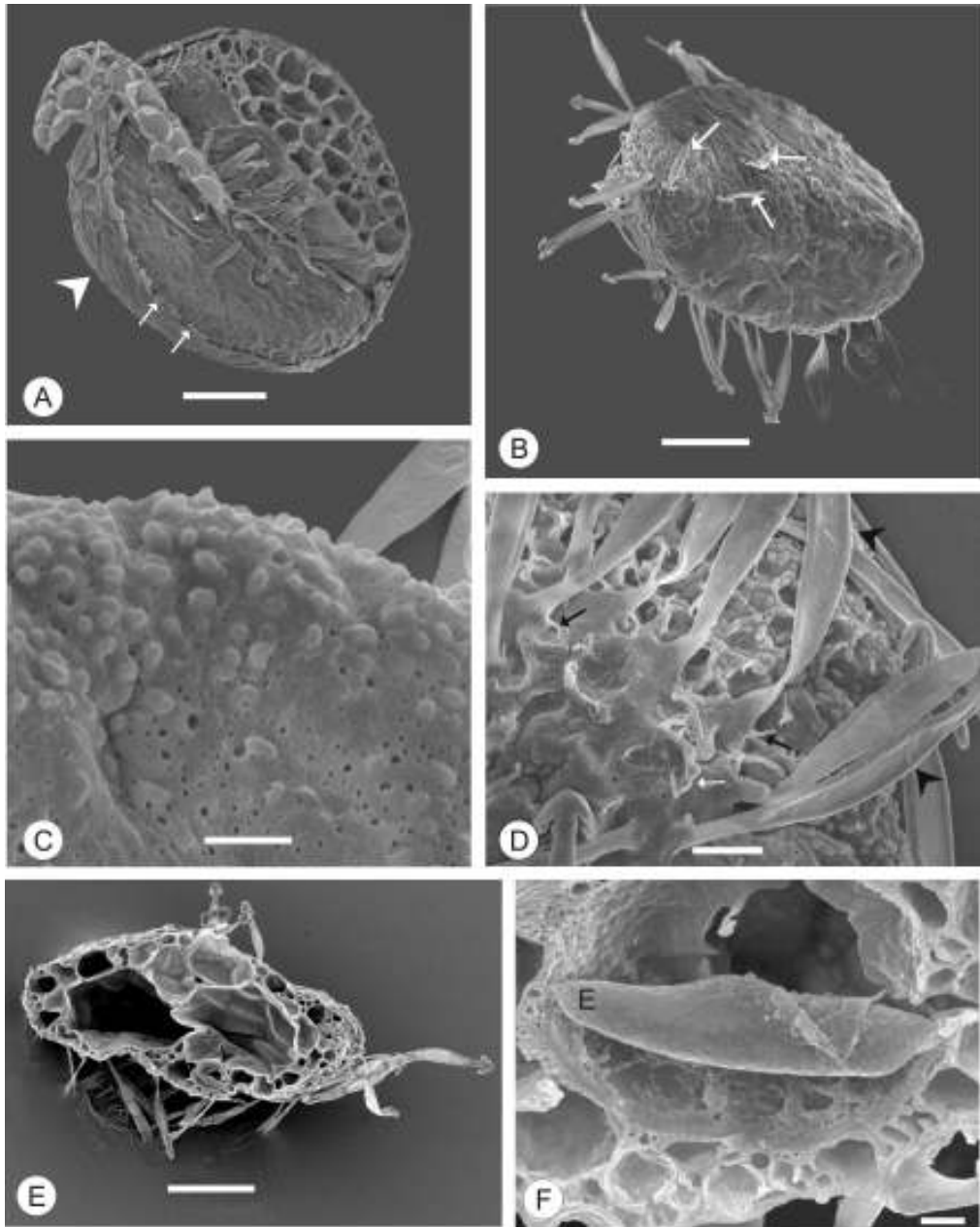


Lámina 4

LÁMINA 4. Microsporangio y másulas de *Azolla cristata* Kaulf., observados con MEB

- A- Microsporangio seccionado, su pared de superficie reticulada puede verse hacia la izquierda de la imagen (punta de flecha). En el interior del microsporangio se observan dos másulas. Los gloquidios se ubican en las superficies de ambas másulas orientadas hacia el centro del microsporangio y también se observan gloquidios que han sido seccionados por debajo del margen de la pared del microsporangio, en los cuales se evidencia su estructura hueca (flechas). La másula de la derecha puede verse en sección, mostrando la estructura interna lacunosa. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Tur 1372* (LP).
- B- Másula con la cara interna orientada hacia abajo. La mayoría de los gloquidios se ubican sobre esta cara y hay solo tres en la cara externa (flechas). Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Tur 1372* (LP).
- C- Detalle de la superficie de la másula, verrucosa-baculada, con perforaciones. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Tur 1372* (LP).
- D- Detalle de la superficie de una másula de otro ejemplar, con varios gloquidios (puntas de flecha), con el cuerpo no septado. Se observan verrugas, perforaciones y procesos delgados (flechas negras), algunos de ellos con extremos semejantes a las cabezas de los gloquidios, en forma de ancla (flecha blanca). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Tur 1372* (LP).
- E- Másula seccionada. En la superficie se encuentran gloquidios, en el cuerpo de algunos de ellos son visibles los septos (flecha). La másula posee dos grandes cavidades centrales y numerosos alvéolos periféricos. En uno de estos alvéolos se aloja una microspora (punta de flecha). Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Capurro 56461* (BA).
- F- Detalle de la microspora observada dentro de la másula en la fig. E. La microspora está seccionada, y se observa la superficie del exosporio (E), rugulada. Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Capurro 56461* (BA).



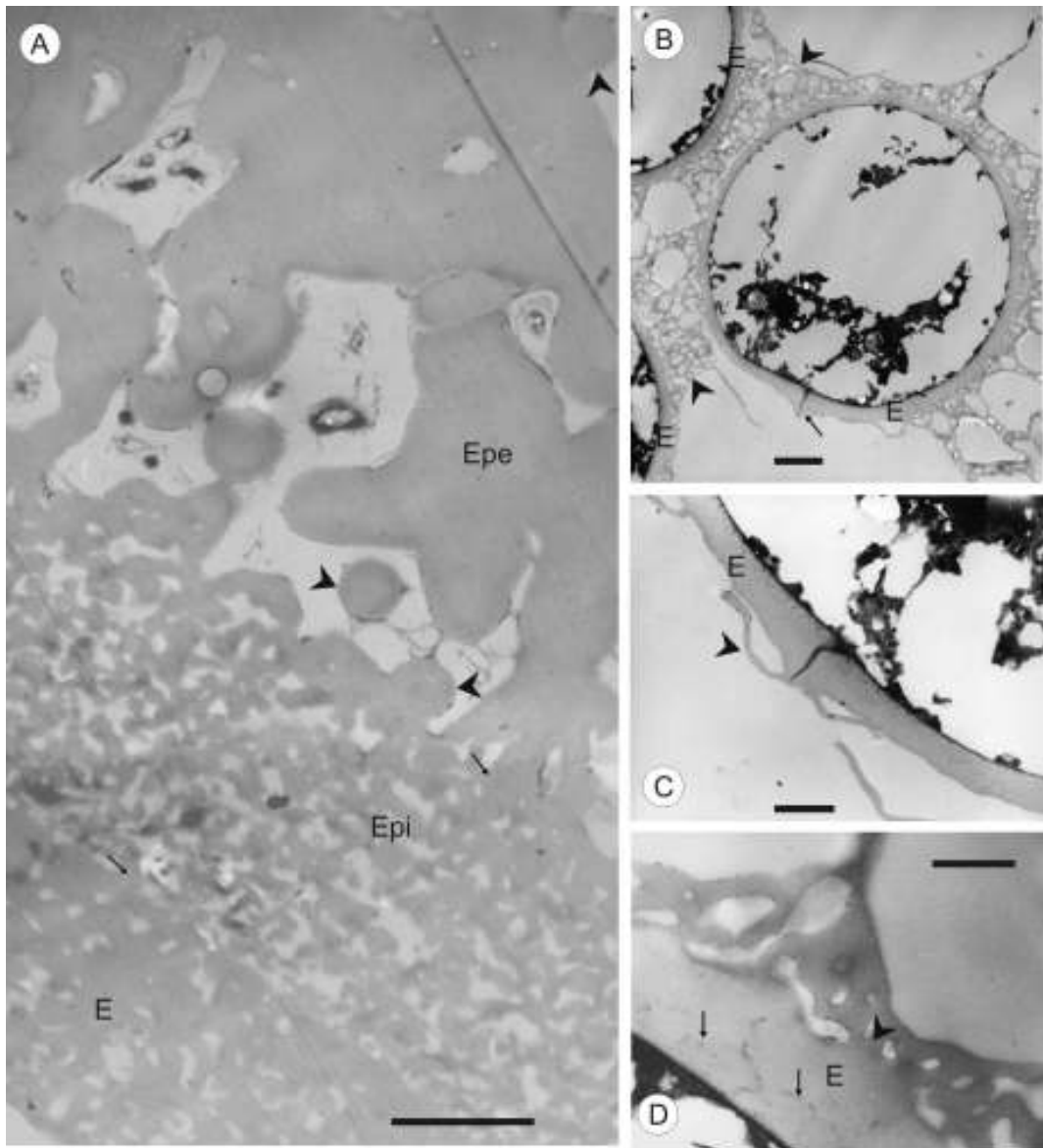


LÁMINA 5. Megasporas (fig. A) y microsporas (figs. B – D) de *Azolla cristata* Kaulf., observadas con MET. Figs. A- D: *Capurro 56461* (BA)

- A- Megaspóra, sección de pared. El exosporio (E) está formado por cordones fusionados, dejando espacios de diámetros variables. La estructura del episporio interno (Epi) está conformada por elementos semejantes a los del exosporio, fusionados de manera más laxa. Algunos de los elementos de esta capa se fusionan con los cordones del exosporio o con los del episporio externo (flechas). El episporio externo (Epe) está conformado por cordones de mayor grosor unidos entre sí. En la parte inferior de esta capa y sobre la superficie se observan estructuras circulares (puntas de flecha) que podrían ser los cordones observados en la superficie de las megasporas, seccionados. Escala: 2.5  $\mu\text{m}$
- B- Sector de una másula donde se observan tres microsporas, con exosporio (E) y la estructura lacunosa de la másula, rodeando a las microsporas (puntas de flecha). En el área de la lesura (flecha) el exosporio está engrosado y separado de la másula. Escala: 2  $\mu\text{m}$
- C- Microspóra, detalle del área abertural. Se observa que una parte desgarrada de la másula (punta de flecha) está adherida al exosporio (E). Escala: 1  $\mu\text{m}$
- D- Microspóra, detalle de la pared. Se observa el exosporio (E), con canales (flechas) y cavidades rellenos por material osmiofílico en todo su espesor. La superficie del exosporio es continua con la estructura de la másula en varios lugares (punta de flecha) y ambas presentan un contraste semejante. Escala: 0.5  $\mu\text{m}$

### 3.1.4. *Azolla filiculoides*

---

*Azolla filiculoides* Lamarck, Encycl. Méthod. Bot. 1: 343, 1783.

Tipo: Argentina, Estrecho de Magallanes, Commerson s/nº. (Holotipo: P, LA)

*Azolla magellanica* Willd., Sp. Plant. 5: 541, 1810.

*Azolla squamosa* Molina, Saggio s. storia nat. Chili: 301, 1810.

*Salvinia azolla* Raddi, Plant. Bras.: 2, 1825.

*Azolla caroliniana* Willd., Sp. Plant. 5: 541, 1810.

*Azolla microphylla* Kaulf., Enum. Fil.: 273, 1824.

*Azolla arbuscula* Desv., Ann. Soc. Lin. Paris VI: 177, 1827.

*Azolla densa* Desv., Ann. Soc. Lin. Paris VI: 177, 1827.

*Azolla bonariensis* Bertol., Miscel. Bot. XXI, 4: 18, 1861.

**Sistema de la megaspora** (Lám. 6; lám. 7; lám. 8; lám. 9 figs. A – C)

El sistema de la megaspora posee una longitud total de 430 – 500  $\mu\text{m}$  (Lám. 6, fig. A; lám. 8, fig. A).

Las esporas son triletas, su diámetro polar es de 144.5 – 185.5  $\mu\text{m}$  y su diámetro ecuatorial es de 225.8 – 285  $\mu\text{m}$ . En vista ecuatorial, la cara distal es hemisférica y la cara proximal es convexa (Lám. 8, fig. A). La superficie presenta un retículo grueso, conformado por áreas de forma poligonal (Lám. 6, fig. A, lám. 7, figs. A - C). En la superficie de los lúmenes se observan esferoides (Lám. 7, fig. B). Cada una de las áreas poligonales a su vez está formada por un retículo de cordones (Lám. 7, fig. C). Algunos de los cordones que conforman el retículo se prolongan lateralmente uniendo entre sí las diferentes áreas poligonales (Lám. 7, fig. A). En la superficie de la megaspora hay cordones de sección circular, de 0.8  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 6, fig. A; lám. 7, figs. A – C).

*Esporodermis* (Lám. 7, figs. D – F)

Exosporio: En sección es de 1.6 – 3.8  $\mu\text{m}$  de espesor. En los cortes se observan al MEB espacios irregulares en todo el espesor de esta pared, de disposición principalmente radial, más abundantes en su parte media (Lám. 7, figs. D, F).

Episporio: es de 6.8 – 23  $\mu\text{m}$  de espesor. En sección posee dos capas (Lám. 7, figs. D, E). La capa interna es de 1.5 – 22  $\mu\text{m}$  de espesor, con estructura lacunosa, conformada por cordones que se fusionan desordenadamente (Lám. 7, figs. D, E). Esta capa forma proyecciones de 18.6 – 21.6  $\mu\text{m}$  de altura y 13.6 – 18  $\mu\text{m}$  de ancho, con alvéolos de mayor tamaño que los correspondientes a la zona interna (Lám.7, fig. E). Los extremos distales de estas proyecciones constituyen las áreas poligonales observadas en superficie.

El episporio externo es de 2.7 – 5.2  $\mu\text{m}$  de espesor y de estructura compacta (Lám. 7, figs. D, E). Esta capa constituye los lúmenes y los cordones que forman las áreas poligonales observados en superficie.

En la parte interna de esta capa se observan elementos de sección circular, de 0.8  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 7, fig. E).

*Estructuras accesorias* (Lám. 6; lám. 7, fig. A; lám. 8; lám. 9, figs. A – C)

El collar está ubicado en el área proximal de la megaspora (Lám. 6, fig. A; lám. 7, fig. A; lám. 8, fig. A), tiene una altura de 44 – 72.2  $\mu\text{m}$ . La superficie externa es rugulada (Lám. 6, fig. A, lám. 7, fig. A), mientras que la parte más próxima a la megaspora presenta verrugas (Lám. 9, figs. A, B). Algunos de los cordones que forman el retículo superficial de la megaspora se fusionan al collar (Lám. 7, fig. A). En sección, el collar presenta una estructura lacunosa (Lám. 8, figs. A; lám. 9, fig. A). En la parte del collar más cercana al exosporio de la megaspora se observan elementos de sección circular, de 0.8  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 9, fig. B).

Sobre el collar, en la parte central, se encuentra la columna, cónica, de 100  $\mu\text{m}$  de altura (Lám. 8, fig. A). En sección, la parte interna de la columna es de estructura lacunosa (Lám. 8, fig. A; lám. 9, fig. A) y hacia la periferia ésta es compacta, con elementos en formas de clava, libres o parcialmente fusionadas entre sí (Lám. 9, fig. C). Sobre la superficie de la columna se encuentran numerosos cordones.

Adherido al ápice de la columna se encuentran restos de la pared del megasporangio (Lám. 6, fig. A).

Los tres flotadores se disponen simétricamente alrededor de la columna. Son de contorno circular a oval, de 138 – 190  $\mu\text{m}$  de altura y 129 – 150  $\mu\text{m}$  de ancho (Lám. 6, fig.

A). En sección su estructura es lacunosa (Lám. 8, fig. A). La superficie de los flotadores presenta perforaciones de variado diámetro (Lám. 6, fig. A).

### **Másulas** (Lám. 9, figs. D – G)

Cada microsporangio contiene entre 6 y 9 másulas. Las másulas poseen una cara plana que se encuentra orientada hacia el interior del microsporangio y su cara externa es convexa (Lám. 9, fig. D). Son de 65 - 165  $\mu\text{m}$  de altura y 102.5 - 215  $\mu\text{m}$  de longitud. La superficie es verrucosa-baculada, con perforaciones de tamaño variable (Lám. 9, fig. E). En la superficie de la másula se encuentran los gloquidios, localizados principalmente sobre la cara plana de la másula (Lám. 9, figs. D, F). La longitud total de los gloquidios es de 58.7 – 92.5  $\mu\text{m}$ . El cuerpo de los gloquidios es de superficie escabrada (Lám. 9, fig. G) y puede tener 1-2 septos cerca de su extremo o no presentar ninguno. El pie de los gloquidios se ensancha lateralmente antes del extremo, que tiene forma de ancla (Lám. 9, fig. G).

En sección, la másula es de estructura lacunosa, posee una o dos cavidades centrales de mayor tamaño y muchas otras periféricas, de menor diámetro (Lám. 9, fig. F). Dentro de algunas de estas cavidades periféricas se localizan las microsporas, en número de 8 a 16 por másula.

### **Microsporas**

Triletes, esferoidales, de 12 - 26  $\mu\text{m}$  de diámetro. Cada lesura es de 4 - 6  $\mu\text{m}$  de longitud. La superficie es escabrada.

Observaciones: En el ejemplar *Meyer 4131* se observaron numerosas variantes en la forma de los gloquidios. En algunos casos el cuerpo se bifurca en el primer tercio de su longitud y desde ese punto se originan dos gloquidios de similar o diferente longitud. En otros casos el extremo distal del gloquidio posee además del ápice en forma de ancla, uno o más apéndices menos desarrollados, ubicados inmediatamente por debajo del extremo o a cierta distancia del mismo (Lám. 9, fig. G).

## **Distribución**

La especie tiene un área de distribución muy amplia en América, desde el SO de Canadá y NE de Estados Unidos hasta Argentina y Chile, llegando hasta las Islas Malvinas. Se la ha localizado en ciertas áreas de Bolivia hasta más de 4000 m.s.m.

De acuerdo al material de herbario examinado y a observaciones personales, se puede ampliar el área de distribución de esta especie en Argentina, incorporándose las provincias de Neuquén y Chubut. Los ejemplares citados que documentan la ampliación del área de distribución en Argentina son los siguientes: Neuquén, *Pérez Moreau y Piccinini 3197* (BAB) fértil; Chubut, Región del Río Corcovado, *Illin 231* (SI) fértil.

En el Cono Sur la especie se ha citado para las siguientes regiones: (Figura VI).

**Argentina:** provincias de Jujuy, Salta, Formosa, Chaco, Catamarca, Tucumán, Corrientes, Santa Fe, La Rioja, San Juan, Córdoba, Entre Ríos, Mendoza, Buenos Aires, La Pampa, Río Negro, Chubut, Santa Cruz.

**Bolivia:** departamentos de Pando, Beni, La Paz, Santa Cruz, Cochabamba, Tarija.

**Brasil:** estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul

**Chile:** regiones de Tarapaca, Antofagasta, Atacama, Coquimbo, Valparaíso, Metropolitana (Santiago), O'Higgins, Talca, Biobío, Araucanía, Los Lagos, Aisén del Gral. C. Ibañez del Campo, Magallanes.

**Paraguay:** departamentos de Alto Paraguay, Presidente Hayes, Central.

**Uruguay:** departamentos de Florida, Montevideo.

### ***Material estudiado:***

**ARGENTINA:** **Buenos Aires,** Punta Indio, s.f., *Capurro 43207* (BA). San Isidro, 2/11/1904, *Hicken 81* (SI). Punta Mogotes, 16/11/1930, s.n, s.n° (LP). La Plata, s.f., *Hicken 19974* (SI). S.l., s.f., *Hicken 505* (SI). Isla Martín García, 16/12/1997, *Hurrell et al. 3742* (BAB). Sa. de la Ventana, s.f., *Kuhnemann 35862* (BA). Tigre, 15/10/1968, *Lanfranchi 1685* (SI). Chascomús, 12/02/1973 *Tur 1559* (LP). **Catamarca,** Andalgalá, 1/1937, *Job 1358* (LP). Región andina, s.f., *Hauthal 19973* (SI). **Córdoba,** S.l., 1909, *Puysegur 30* (SI). **Chaco,** S.l., s.f., *Dimitri y Piccinini 382* (BAB). Colonia pastoril, 1939, *Icikson y Melillo 142* (BAB). Colonia Benítez, 1938, *Schulz 6698* (BAB). Dto. Tapenaga, 11/1940,

*Rodrigo 2415* (LP). **Chubut**, Región del R. Corcovado, s.f., *Illin 231* (SI). **Formosa**, s.l., 1919, *Jorgensen 3349* (SI). **Jujuy**, Dto. Santa Bárbara, 20/07/1963, *Cabrera 15750* (LP). Dto. Tumbaya, Volcán, s.f., *Cabrera 15838* (LP). Dto. Tumbaya, Volcán, La Laguna, 16/02/1927, *Venturi 4908* (LP). Dto. Purmamarca, Ciénaga, s.f., *Cabrera 15057* (LP). **Mendoza**, San Rafael, Valle del Río Atuel, 26/01/1963, *Boelcke et al. 10265* (BAB). **Neuquén**, Las Lajas, Río Agrio, 11/12/1971, *Pérez-Moreau y Piccinini 3197* (BAB). Pehuenches, 22/11/1982, *Rossow 1748* (BAB). **La Rioja**, Dto. Gral. Lavlle, Va. Unión, 1/11/1942, *Meyer 4131* (SI). **Río Negro**, S.l., 2/01/1915, *Fischer 233* (SI). **Salta**, Cafayate, 1896, *Spigazzini 23710* (LP). **Santa Fe**, Reconquista, 8/11/1933, *Burkart 5763* (SI). Dto. Capital, 12/11/1965, *Tur s.n°* (LP). **San Juan**, Vega Tihumairoya, 1/01/1930, *Pérez-Moreau 4/30* (BA). **Tucumán**, Río Chico, Dique Escaba, 4/06/1956, *De la Sota 57149* (BA).

**BOLIVIA: Cochabamba**, Colpirhua, 1943, *Cárdenas 48860* (BA). S.l., 1948, *Musch 42* (SI). Prov. Cercado, 1/12/1929, *Steinbach 8738* (BA).

**CHILE: Región de Atacama**, Prov. de Huasco, 15/11/1956, *Ricardi y Marticorena 3982* (LP). **Región de Coquimbo**, Dto. Serena, 1927, *Werdemann 369*. **Región de Valparaíso**, Valparaíso, Limache, 27/06/1927, *Looser 176 H* (SI). **Región de O'Higgins**, Prov. Colchagua, Valle del R. Calchapoal, 29/01/1938, *Pérez-Moreau 22949* (BA). **Región de Los Lagos**, S.l., 11/02/1909, *Hicken 88* (SI). S/l, s.f. s.n., *n° 33103* (LP).

**URUGUAY: Florida**, Timote, 1937, *Gallinal et al. B-781* (BAB). **Montevideo**, Pocitos, 1924, *Herter 71350* (SI)

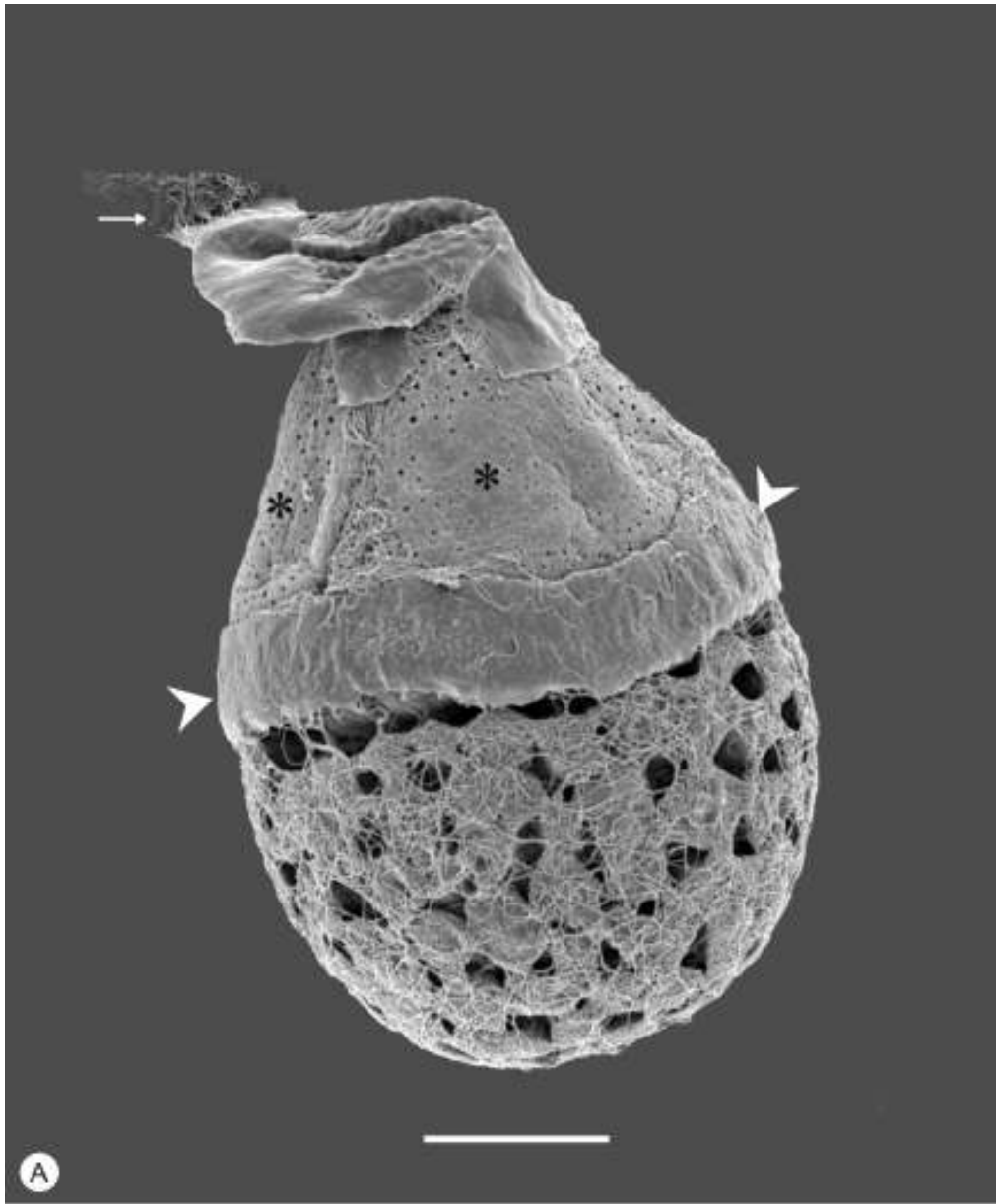


Lámina 6



LÁMINA 6. Megaspóra de *Azolla filiculoides* Lam. observada con MEB

A- Sistema de la megaspóra. Megaspóra ubicada hacia la parte inferior de la imagen. La superficie de la megaspóra presenta áreas poligonales reticuladas y numerosos cordones. Se observa el collar (puntas de flecha), y dos de los flotadores (asteriscos). La superficie de los flotadores presenta perforaciones. En el extremo superior del complejo de la megaspóra es visible el ápice de la columna, conformado por cordones y cubierto por restos de la pared del megasporangio adheridos (flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Cabrera 15057* (LP).

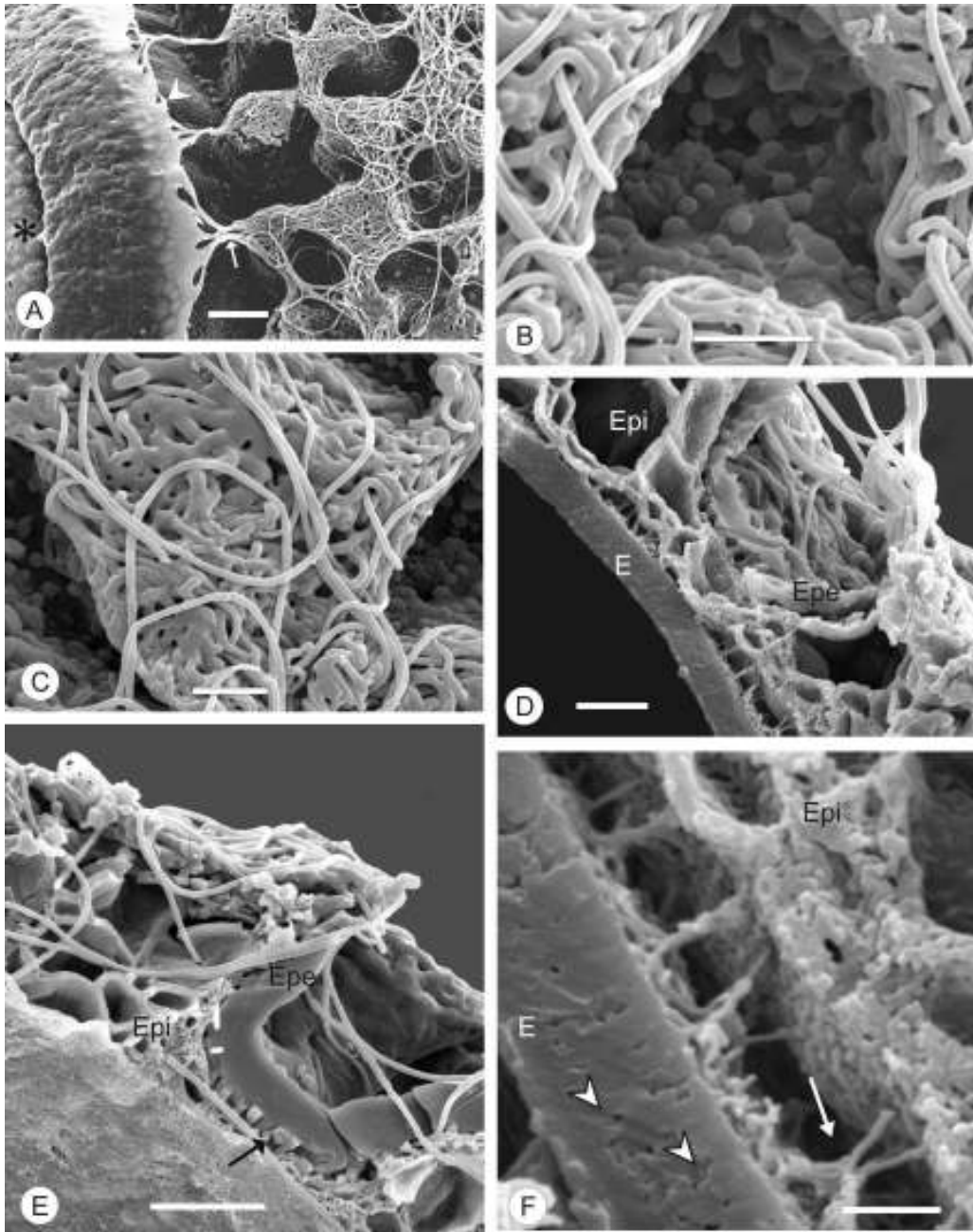


LÁMINA 7. Megasporas de *Azolla filiculoides* Lam. observadas con MEB.

- A- Detalle de la superficie de la megaspora hacia la derecha de la imagen y parte del collar (punta de flecha) y de un flotador (asterisco). La superficie de la megaspora presenta áreas poligonales reticuladas, separadas por áreas deprimidas. Algunos de los cordones del retículo se prolongan y fusionan en dirección al collar (flecha). La superficie del collar es rugulada. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Spegazzini 23710* (LP).
- B- Detalle de superficie en una de las áreas deprimidas entre las proyecciones reticuladas. Se observan cuerpos más o menos esféricos, aplanados, distribuidos irregularmente. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Meyer 4131* (LP).
- C- Detalle de superficie en una de las áreas poligonales reticuladas, con cordones que emergen entre algunos de los lúmenes. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Meyer 4131* (LP).
- D- Sección de pared. Se observa el exosporio (E) con cavidades en su parte media. La parte interna del episporio (Epi) es de estructura lacunosa, con alvéolos de distintos diámetros. La capa externa del episporio (Epe) es compacta. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Meyer 4131* (LP).
- E- Detalle del episporio, la parte interna (Epi) conforma una proyección y es de estructura lacunosa. El episporio externo (Epe), de estructura compacta, es de mayor espesor en las áreas deprimidas y más delgado sobre las proyecciones del episporio interno. En la parte más profunda del episporio externo se observan elementos de sección circular (flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Cabrera 15057* (LP).
- F- Detalle de sección de pared en la fig. E. Exosporio (E), con cavidades en su parte media (puntas de flecha) y parte interna del episporio (Epi), conformado por cordones delgados. Algunos de los cordones del episporio interno se encuentran estirados (flechas). Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Meyer 4131* (LP).



Lámina 8

LÁMINA 8. Megaspóra de *Azolla filiculoides* Lam. observada con MEB

A- Sistema de la megaspóra en sección, hacia la parte superior se observan: el collar (punta de flecha), la columna central cónica (estrella), con estructura lacunosa y uno de los flotadores (asterisco). Otro de los flotadores ha sido removido (parte superior derecha de la imagen). La pared de la megaspóra está constituida por el exosporio (E), parcialmente desprendido en el polo distal y el episporio (Ep). Área del recuadro ampliada en la lám. 9, fig. A. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Cabrera 15057* (LP).

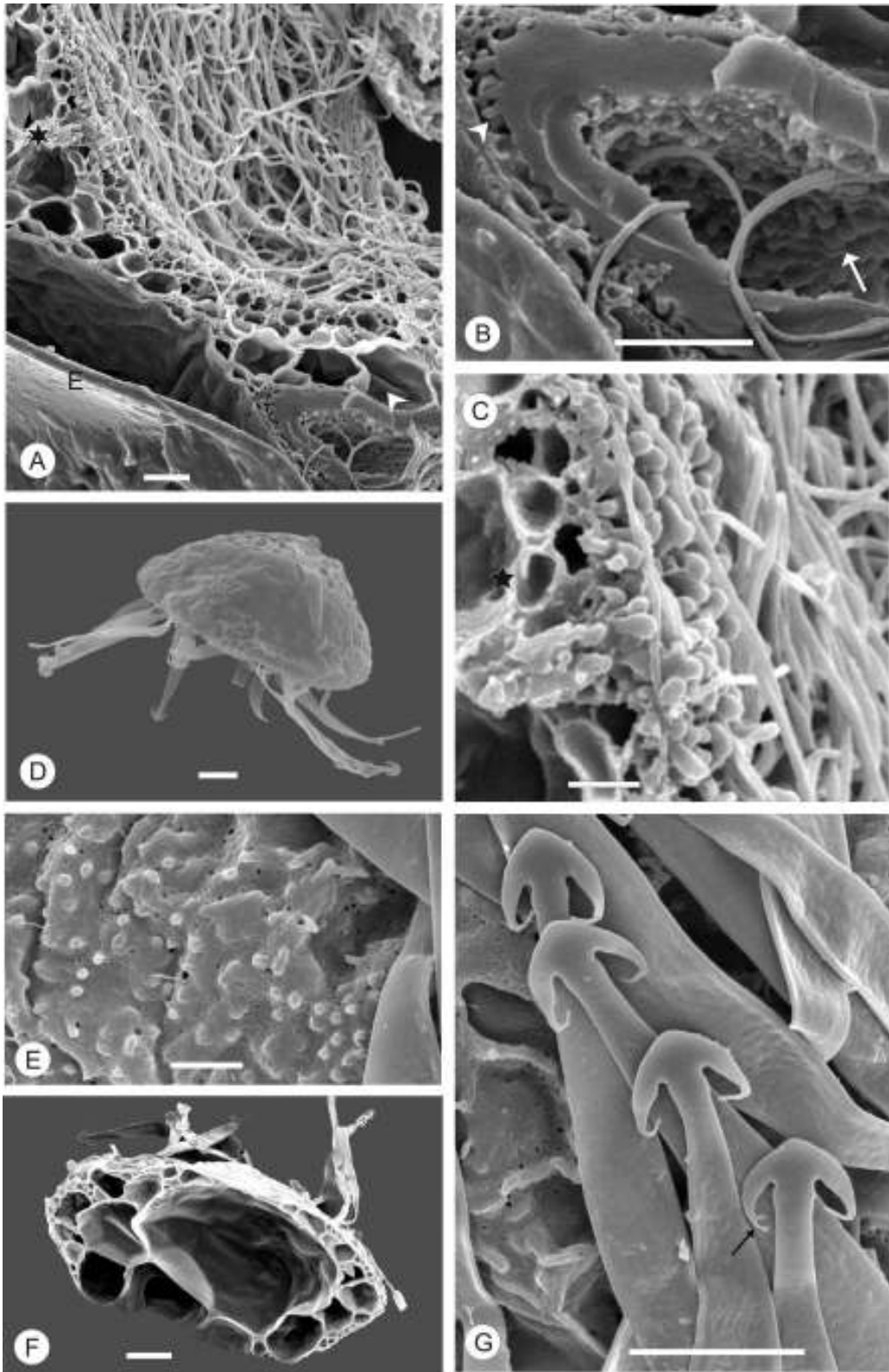


Lámina 9

LÁMINA 9. Megasporas y másulas de *Azolla filiculoides* Lam. observadas con MEB

- A- Detalle del sector marcado en el recuadro de la lám 8, fig. A. Se observa el exosporio (E), separado de la columna en la cara proximal. Hacia la derecha se encuentra parte del collar (punta de flecha), en sección, mostrando su estructura lacunosa. En la parte superior izquierda de la imagen se observa la columna (estrella), con estructura lacunosa. La superficie de la columna está cubierta por cordones. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Cabrera 15057* (LP).
- B- Detalle de la fig. A, área del collar ampliada. Se observa parte del collar, con verrugas en su superficie (flecha) y elementos de sección circular en su parte interna (punta de flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Cabrera 15057* (LP).
- C- Detalle de la fig. A, área de la columna central ampliada. Se observa parte de la estructura interna de la columna (estrella), lacunosa y elementos en forma de clava en la periferia. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Cabrera 15057* (LP).
- D- Másula, con su cara plana con numerosos gloquidios. La cara convexa presenta sólo dos de ellos. Los gloquidios no tienen septos y su extremo tiene forma de ancla. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Job 1358* (LP).
- E- Detalle de la superficie de la másula, con verrugas, báculos y perforaciones de diversos tamaños, distribuidas irregularmente. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Meyer 4131* (LP).
- F- Másula en sección. Sobre su superficie se observan los gloquidios. La másula presenta una gran cavidad central y alvéolos periféricos de menor tamaño. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Meyer 4131* (LP).
- G- Detalle de los gloquidios, con la superficie escarbada. El cuerpo presenta una dilatación por debajo del extremo en forma de ancla. En uno de los gloquidios se observa una bifurcación en la expansión lateral del extremo (flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Meyer 4131* (LP).



Figura VI. Distribución de las especies de *Azolla* en el Cono Sur de Sudamérica



### 3.1.5. Discusión

---

Recientemente se ha reevaluado la taxonomía de las especies de *Azolla* presentes en América (Evrard & Van Hove, 2004) y se ha reconocido la presencia de dos especies: *Azolla filiculoides* y *A. cristata*. En los trabajos previos se citaban además otras especies: *Azolla caroliniana*, *A. microphylla* y *A. mexicana*. De acuerdo al nuevo esquema taxonómico, las dos primeras se consideran sinónimos de *Azolla filiculoides* y *A. mexicana*, sinónimo de *A. cristata*. Fue necesario considerar estos cambios con el fin de poder efectuar caracterizaciones a nivel específico del material correspondiente al área de estudio y poder discutir las con los resultados obtenidos por otros autores. Las determinaciones del material de herbario fueron revisadas, ya que en muchos casos responden a esquemas taxonómicos más antiguos o el material ha sido incorrectamente determinado o no se determinó a nivel específico.

En las megasporas de *Azolla cristata* correspondientes a ejemplares consultados en el presente trabajo se ha observado variabilidad en la superficie cubierta por los cordones. Así, en los ejemplares *Capurro 56461* y *Rojas 8341* los cordones están restringidos a la superficie de la megaspora y en el ejemplar *Tur 1372* los cordones se extienden además sobre la superficie del collar y la columna. Martin (1976a) describió e ilustró megasporas de *A. caroliniana* (= *A. cristata*) con cordones distribuidos sólo sobre la superficie de la megaspora. En los ejemplares de *Azolla microphylla*, *A. caroliniana* y *A. mexicana* (todas ellas consideradas sinónimos de *A. cristata*) presentados por Perkins et al. (1985) se observa esta variabilidad, si bien los autores las consideraron tres especies diferentes.

El exosporio de estructura lacunosa observado con MO, MEB y MET en *Azolla cristata* y con MEB en *A. filiculoides*, fue descrito como granular al ser observado con MEB por Perkins et al. (1985), para las megasporas de todo el género. La estructura del episporio de *Azolla cristata* es similar a la descrita por Perkins et al. (1985) para *A. microphylla* y *A. caroliniana*.

La morfología general y la ultraestructura de las megasporas de *Azolla filiculoides* del área de estudio de esta Tesis coinciden con las descritas previamente por varios autores para ejemplares pertenecientes a esta misma área: Di Fulvio (1956, 1961), sobre material de la región central de Argentina y Morbelli (1980), quien las describió en base a

material de la región patagónica de Argentina. Asimismo coinciden con ejemplares de otras regiones, tales como los presentados por Bonnet (1957), que estudió material de Francia; Martin (1976a); Fowler & Stennett-Wilsson (1978), sobre ejemplares de Gran Bretaña; Perkins *et al.* (1985), con material proveniente de Israel, Japón y Hawaii y Tryon & Lugardon (1991) quienes estudiaron con MET ejemplares de Francia y utilizaron las observaciones previas de Perkins *et al.* (1985) para las ilustraciones con MEB.

El lugar de origen de los cordones observados en la superficie de las megasporas de ambas especies estudiadas ha sido un tema de discusión entre los distintos investigadores. De acuerdo a las observaciones con MET del presente trabajo los cordones se evidenciarían como estructuras de sección circular en la parte más profunda del episporio externo; al MEB son visibles entre los elementos del episporio externo. Para Bonnet (1957), Perkins *et al.* (1985) y Collinson (1991) los cordones podrían originarse de la parte superior del episporio interno. En cambio, para Tryon & Lugardon (1991) los cordones se extenderían desde el episporio interno. Fowler & Stennett-Willson (1978) observaron que los cordones emergen entre los elementos de la superficie, sin proponer cual sería el área de origen de los mismos. Estos últimos autores consideraron que los cordones que se encuentran sobre todo el complejo de la megaspora constituyen otra estructura accesoria, y la denominaron *filosum* (término propuesto por Sweet & Chandrasekharam (1973) para la descripción de la megaspora de la especie *Azolla schopfii*, Paleoceno, Canadá).

La columna central, de estructura lacunosa, presenta un canal central más o menos continuo en el ejemplar *Capurro 56461* de *Azolla cristata*. La presencia de un canal en ésta u otras especies actuales no ha sido mencionada previamente, si bien en algunas especies fósiles se describieron estructuras semejantes: Fowler (1975) describió a la especie *Azolla prisca* (Oligoceno inferior, Isla de Wight, Gran Bretaña), cuya megaspora posee una columna de estructura lacunosa, con un canal central estrecho. El canal se abre en un poro en la superficie, que se evidencia en la por una pequeña indentación en el ápice de la columna. Martin (1976a) publicó una fotomicrografía con MO de la especie *Azolla velus* (Paleoceno, South Dakota, Estados Unidos) que presenta una larga columna cónica, de estructura semejante a la del resto de la pared de la megaspora, con una cavidad alargada que la recorre. Collinson (1980) al describir la especie *Azolla colwellensis* (Eoceno, Gran

Bretaña) mencionó una columna compuesta por cordones únicamente, con una cavidad en todo su recorrido.

La estructura general de las másulas de ambas especies concuerda con las descripciones previas de Morbelli (1980) para *A. filiculoides*, sobre observaciones al MO y MEB y con las de Tryon & Lugardon (1991), realizadas con MEB para las especies del subgénero *Azolla*, sección *Azolla*. Los gloquidios sin septos, o con 1-2 septos son característicos en *Azolla filiculoides*, coincidiendo con las descripciones de estos autores y las observaciones de de la Sota (1985) y Evrard & Van Hove (2004).

En las másulas del ejemplar de *Azolla filiculoides* Meyer 4131 se observaron extremos de los gloquidios con apéndices más numerosos que los dos laterales, que dan al extremo una forma de ancla. Esta morfología se asemeja a la observada en taxa fósiles relacionados con *Azolla*, como *Azollopsis*, del Cretácico Superior de América del Norte (Hall, 1968; Sweet & Hills, 1974; Hall, 1974) y *Paleoazolla*, del Cretácico Superior de Chubut, Argentina, (Archangelsky et al, 1999).

Las másulas de *Azolla cristata* estudiadas presentan gloquidios con un número de septos variable en el cuerpo, o sin septos. Algunos autores (Di Fulvio, 1956; Legrand y Lombardo, 1958; de la Sota, 1985) sostuvieron que el número de septos en los gloquidios podría ser considerado como un carácter diagnóstico para las especies de *Azolla*. En el ejemplar *Tur 1372* se hallaron megasporas del tipo *Azolla cristata* junto con másulas con gloquidios sin septos (hasta ahora considerados típicos de *A. filiculoides*). Además de éste, otros autores reconocieron previamente la existencia de individuos de difícil determinación. Así, Burkart (1933) coleccionó un ejemplar cuya megaspora corresponde al tipo de *Azolla cristata*, con másulas de gloquidios sin septos, o escasamente septados. El autor propuso que podría tratarse de un híbrido interespecífico entre *Azolla filiculoides* y *A. cristata*. Di Fulvio (1956) mencionó tres ejemplares (entre ellos el citado por Burkart, 1933) donde se repite la misma combinación de caracteres (megasporas con superficie característica de *Azolla cristata* y gloquidios con 0-2 septos). Godfrey et al. (1961) registraron gloquidios septados y no septados en una misma másula de *A. caroliniana* (= *A. cristata*).

El número de septos en el cuerpo de los gloquidios podría tener alguna utilidad taxonómica, pero no puede considerarse diagnóstico por sí solo, sino que debería ser

complementado con otros caracteres. Evrard & Van Hove (2004) expresaron asimismo la necesidad de considerar en las determinaciones características vegetativas y de las megasporas.

La continuidad observada entre el exosporio de las microsporas y la estructura de la másula, así como su semejanza en el contraste al observarlos con MET fue observada por Lugardon & Husson (1982) y Tryon & Lugardon (1991), quienes consideraron que las másulas estarían conformadas por los episporios de todas las microsporas fusionados.

Las microsporas de ambas especies estudiadas se ajustan a las descripciones previas realizadas por Morbelli (1980) para *Azolla filiculoides* de la región patagónica (Argentina) y por Tryon & Lugardon (1991) para microsporas de *A. filiculoides* pertenecientes a ejemplares colectados dentro del área de estudio. El exosporio corresponde con el tipo “blechnoide” definido por Lugardon (1972) para Filicophyta isosporadas y utilizado asimismo por Lugardon & Husson (1982) para Filicophyta heterosporadas.

### 3. 2. Salviniaceae

---



### 3. 2.1. Consideraciones generales

---

La familia Salviniaceae cuenta con un solo género, *Salvinia*, que se distribuye en todo el mundo principalmente en las regiones tropicales y subtropicales. Son plantas acuáticas de pequeño porte, flotantes y conforman el sustento de ricas comunidades pleustónicas. Se propagan con facilidad por multiplicación vegetativa, por crecimiento y fragmentación. Si las condiciones ambientales son favorables, la tasa de crecimiento y multiplicación es muy elevada. Esta característica convierte a algunas de las especies en malezas acuáticas importantes en las regiones donde han sido introducidas por la actividad humana. Ocasionan trastornos en lagos, embalses y reservorios artificiales de agua, obstaculizando la navegación y deteriorando la calidad del agua. En los últimos treinta y cinco años se ha intentado identificar cuáles son las especies peligrosas o potencialmente peligrosas y precisar caracteres diagnósticos para cada una de ellas, ya que estas herramientas permitirían monitorear o controlar las poblaciones.

La similitud que presentan las diferentes especies es a nivel de su morfología vegetativa y su plasticidad fenotípica (Mitchell & Thomas, 1972) son los mayores obstáculos para su reconocimiento. Se han realizado claves para determinar las especies en estado fértil, basadas en la forma del órgano foliar sumergido y en estado estéril, utilizando el patrón de venación de las frondes flotantes (Forno, 1983). Sin embargo, la variabilidad de cada individuo de acuerdo a las condiciones ambientales y la densidad de población, dificulta las determinaciones.

Dentro del género se reconoce un grupo de especies, denominado “complejo *Salvinia auriculata*” (Mitchell & Thomas, 1972), caracterizado por tener los pelos de las papilas foliares unidos en sus extremos distales. Las especies que lo integran son: *S. auriculata* Aub., *S. biloba* Rad., *S. adnata* Desv. (= *S. molesta* Mitch.), que habitan dentro del área de estudio y además *S. nuriana* de la Sota & Cassa, *S. spruceii* Kuhn y *S. martynii* Spruce, del norte de Sudamérica.

El mecanismo de la reproducción sexual es poco conocido en *Salvinia*. Según Bonnet (1956) en *S. natans* (L) All. se forman 64 microsporas por másula, mientras que en las especies neotropicales se forman entre 24 y 32 microsporas. El autor propuso que las especies de *Salvinia* con producción de menor número de esporas serían las más avanzadas

evolutivamente. Los únicos datos conocidos sobre el mecanismo reproductivo en *Salvinia* son que los megasporangios y másulas son liberados por la desintegración de la pared del soro, caen hasta el fondo del cuerpo de agua y allí se producen los gametofitos. Las microsporas germinan dentro de las másulas.

La mayoría de los trabajos sobre las especies de *Salvinia* que crecen dentro del área de estudio tratan sobre aspectos florísticos, taxonómicos o de la morfología vegetativa. Entre estos trabajos se destacan las numerosas contribuciones de de la Sota (1962b, 1962c, 1963, 1976, 1995 y 2001).

Desde el punto de vista palinológico la especie más estudiada ha sido *Salvinia auriculata*. Bonnet (1955) describió la microsporogénesis y algunos estadios de la megasporogénesis de esta especie. Tryon & Tryon (1982) presentaron detalles de la morfología y estructura de mega-, microsporas y másulas observados con MEB. Tryon & Lugardon (1991) analizaron las másulas y microsporas de *S. auriculata*, añadiendo observaciones con MET. Gardenal et al. han descrito las mega-, microsporas y másulas de *S. minima* (2005, 2007) y las correspondientes a *S. biloba* y *S. auriculata* (2006, 2008).

Collinson (1991) consideró que las megasporas de *Salvinia* tienen una morfología y ultraestructura características, y que la presencia de una sola másula sin gloquídios por microsporangio serían caracteres diagnósticos del género. Las mega- y microsporas de *S. oblongifolia* Mart. del norte de Sudamérica han sido estudiadas por de la Sota (1962a) y las de *S. natans* (L.) All. del Viejo Mundo han sido descritas por Stafford (2003). También hay referencias sobre las esporas de *S. nymphellula* Desv., una especie africana (Hossain, 1971). Este autor describió brevemente la pared de la megaspora y su estructura apical y la relacionó con cámara polínica que se encuentra en óvulos de Gimnospermas; explicó también parte del proceso de germinación de la megaspora.

La morfología y en algunos casos la estructura de las esporas en algunas especies fósiles asignadas a este género han sido estudiadas: *Salvinia aureovallis* (Jain & Hall, 1969), *Salvinia cobhamii* (Martin, 1976b), *Salvinia natans* (Nasu & Seto, 1976), *Salvinia cerebrata* y *Salvinia* sp. (Friis, 1977), *Salvinia reussi* (Collinson, 1991) y *Salvinia* sp. (Batten & Collinson, 2001).

En las descripciones palinológicas se adoptó en general la terminología utilizada por Tryon & Lugardon (1991). Para la denominación de las estructuras ubicadas en la parte proximal de las megasporas de *Salvinia* se ha consultado y analizado en forma crítica la terminología propuesta por otros autores (Tabla 2). Debido a la falta de unidad evidente en la literatura palinológica se decidió finalmente describir las estructuras proximales de las megasporas de *Salvinia* de la manera más completa posible, sin adoptar ninguna propuesta terminológica previa.

Autor	Terminología propuesta	Taxón descripto
<b>Gardenal 2009</b>	Proyección trirradiada interna, facetas externas	<i>Salvinia auriculata</i> , <i>S. biloba</i> , <i>S. minima</i>
<b>Jain &amp; Hall (1969)</b>	Neck-like structure	<i>Salvinia aureovallis</i> †
<b>Hossain (1971)</b>	Gymnosperm-type pollen chamber-like structure	<i>Salvinia nymphellula</i>
<b>Hall (1974)</b>	Flap-like extensions	<i>Salvinia spp.</i>
<b>Nasu &amp; Seto (1976)</b>	Cephalic part	<i>Salvinia natans</i> (fósil)
<b>Friis (1976)</b>	Triradiate acrolamela + 3 valves	<i>Salvinia spp.</i> , <i>S. cerebrata</i> †
<b>Martin (1976b)</b>	Three-lipped	<i>Salvinia cobhamii</i> †
<b>Schneider &amp; Pryer (2000)</b>	Gula	<i>Salvinia spp.</i>
<b>Stafford (2003)</b>	Massa	<i>Salvinia natans</i> (actual)
<b>Nowak &amp; Lupia (2004)</b>	Tripartite acrolamela	<i>Salvinia spp.</i>

Tabla 2. Terminología utilizada por los diferentes autores para describir las estructuras proximales de las megasporas de *Salvinia*



**Salviniaceae** T. Lestiboudois Botanogr. Elem. 448. 1826

**Salvinia** Séguier, Fl. Veron. 3: 52. 1785.

Tipo: *Salvinia natans* All. Flora Pedemontana 2: 289. 1785

*Salvinia* Adanson nom. illeg., Fam. Pl. 2: 15. 1763.

Plantas acuáticas, flotantes, frecuentemente formando carpetas en aguas calmas. Rizoma horizontal, de tipo protostélico a solenostélico, con el sistema vascular poco desarrollado, sin raíces. Frondes en conjuntos de tres; un par flotante, de contorno oblongo-redondeado, costadas, con venación dicotómica, con uniones transversales que determinan aréolas. Tricomas característicos sobre las frondes, formados por una papila terminada en cuatro pelos multicelulares. La tercera fronde, sumergida, se divide en numerosas lacinias. Soros globosos, envueltos por un indusio de pared delgada, agrupados sobre las frondes sumergidas, conteniendo megasporangios o microsporangios. Microsporangios numerosos, con microsporas triletes, esferoidales. Megasporangios en menor número, cada uno con una megaspora trilete, ovoide. Descripción adaptada de Tryon & Tryon (1982).

### 3. 2. 2. *Salvinia adnata*

---

***Salvinia adnata* Desvaux**, Mem. Soc.Linn. Paris 6: 177. 1827.

Tipo: Isla Reunión (P)

*S. rotundifolia* Willd., Sp. Pl. 5: 537. 1810.

*S. molesta* Mitchell, Brit. Fern. Gaz. 10 (5): 251 - 252. 1972.

*S. auriculata* auct. non Aubl.

Observaciones: Todos los especímenes de *Salvinia adnata* Desv. analizados que portaban ejes reproductivos tienen microsporangios, pero solo ocasionalmente megasporangios (observados en los ejemplares *Forno 32* y *Forno 28*).

En todos los ejemplares tanto micro- como megasporangios son de tamaño reducido en comparación a los de las demás especies analizadas, más oscuros, con paredes rotas y carecen de esporas (Lám. 10).

## **Distribución**

Esta especie probablemente sea la misma que crece y se reproduce únicamente por vía vegetativa en amplias áreas de África (Mauricio, Madagascar, República de Marfil, Ghana, Zambia, Kenia, Namibia, Botswana, Sudáfrica), Asia (Filipinas, India, Sri Lanka), Oceanía (Australia, Nueva Guinea, Nueva Zelanda, Hawaii) y en el sur de Estados Unidos (Carolina del Sur, Carolina del Norte, Texas y Louisiana). En estas regiones extra-sudamericanas constituye una importante maleza acuática.

Dentro del área de estudio la especie crece en Brasil, en el área costera entre los 25° y 32° S y hacia el interior del continente en los estados de Paraná, Rio de Janeiro y Santa Catarina (Fig. VII).

### ***Material estudiado:***

**BRASIL:** **Paraná,** Praia de L'este, Rio Guaraguaçu, Km 15-17, 31/05/1978, *Forno 32* (LP). Paranagua, Rio Guaraguaçu, Km 15-16, 31/03/1978, *Forno 29* (LP). **Rio Grande do Sul,** Guaiba, sace da Alemos, 17/03/1978, *Forno 23* (LP). **Santa Catarina,** Joinville, Florianópolis, Road Km 63, Mun. Itapueu, 14/03/1978, *Forno 18* (LP). S.l., s.d., *Forno 28* (LP). Ponte sobre o Río Araçatuba, 14/03/1978, *Forno 19* (LP). Rio Itapocu, Km 63, 14/03/1978 *Forno 25* (LP).

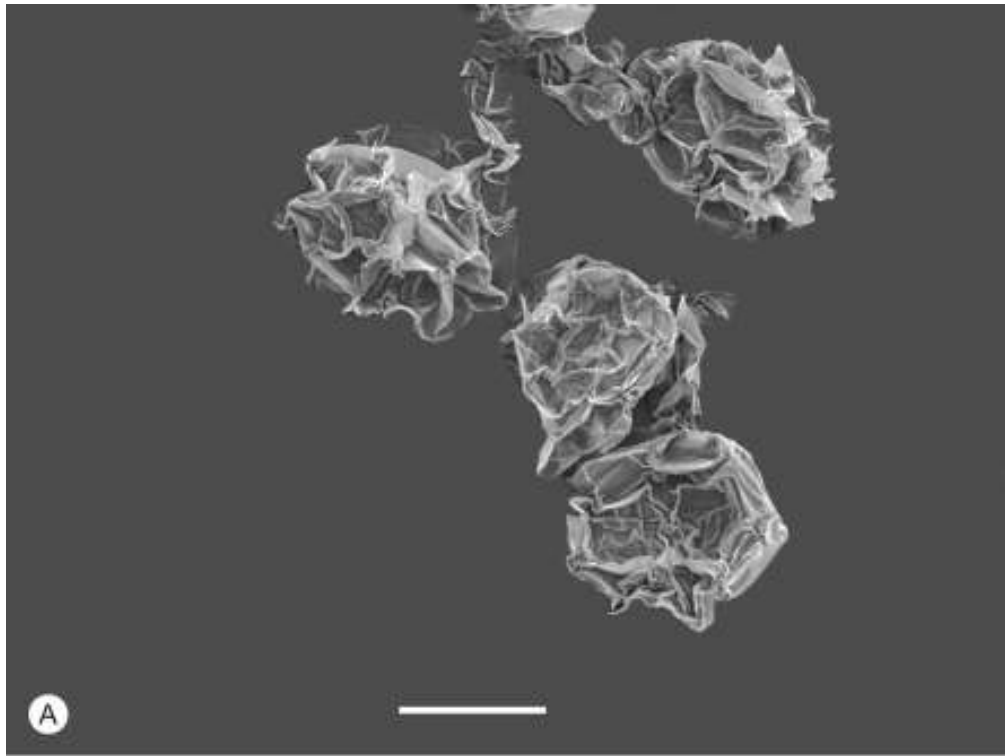


Lámina 10

LÁMINA 10. Microsporangios de *Salvinia adnata* Desvaux observadas con MEB.

A- Microsporangios sin contenido, las cubiertas se observan plegadas. Escala: 50  $\mu\text{m}$ .

Ejemplar: *Forno 18* (LP)

### 3. 2. 3. *Salvinia auriculata*

---

***S. auriculata* Aublet.** Hist. Pl. Guiane 2: 969. 1775.

Tipo: French Guiana, Aublet s.n. (P?)

*Salvinia hispida* Kunth, Nov. Gen. Sp. (quarto ed.) 1: 44. 1815 [1816].

*Salvinia rotundifolia* Willd., Sp. Pl. 5: 537. 1810.

*Salvinia radula* Baker, J. Bot. 24: 98 (1886).

**Megasporas** (Lám. 11; lám. 12, figs. A – C)

Son triletas, de 357.1 – 418.9  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 268.3 – 310.8  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, circulares en vista polar, con margen irregular (Lám. 11, fig. A) y ovoides en vista ecuatorial (Lám. 11, figs. C – E). La superficie es diferente en ambos polos, foveolada en el polo proximal y con lomos y perforaciones de diámetro variable en las áreas distal y ecuatorial (Lám. 11, figs. A, B).

*Esporodermis* (Lám. 11; Lám. 12, figs. A - C).

Exosporio: Visto al microscopio estereoscópico es de color castaño. En sección, el exosporio presenta un espesor de 3.8 – 6  $\mu\text{m}$ . Con MEB se observa que la superficie es verrucosa, entre las verrugas y sobre ellas hay procesos baculiformes, delgados, de 200 – 400 nm de altura (Lám. 12, fig. B). La estructura es compacta, con elementos con orientación radial (Lám. 12, fig. C).

Episporio: Observado al microscopio estereoscópico es de color blanco. Su espesor total es de 34 – 84.5  $\mu\text{m}$ , es de estructura lacunosa, y en él se distinguen dos zonas de acuerdo con el diámetro de los alvéolos (Lám. 12, figs. A - C). La zona interna es de 6.2 – 14.5  $\mu\text{m}$  de espesor, con alvéolos de 200 – 600 nm de diámetro. La zona externa es de 27.8 – 70  $\mu\text{m}$  de espesor, con alvéolos de 1 – 1.9  $\mu\text{m}$ .

Sobre la parte proximal de la espóra se encuentra una proyección de estructura compleja. En superficie se observan tres facetas subtriangulares, de superficie foveolada, con márgenes internos engrosados, lisos (Lám. 11, figs. A, B, D). En las áreas de contacto entre estas facetas, en el contorno de la espóra, se observan engrosamientos (Lám. 11, fig. A,

C - F). La parte interna está constituida por una proyección trirradiada, de 92.3 – 133.3  $\mu\text{m}$  de altura (Lám. 11, figs. C, E - G). Entre la proyección interna y las facetas externas queda determinado un espacio (Lám. 11, figs. E- G). La estructura interna de la proyección apical es lacunosa (Lám. 11, fig. G).

**Másulas** (Lám. 12, figs. D – G)

Son cuerpos esferoidales a elipsoidales, de 154.7 – 240  $\mu\text{m}$  de longitud según su eje mayor (Lám. 12, figs. D, F). La superficie presenta lomos amplios, irregulares, con perforaciones de diámetros variables (Lám. 12, figs. D, E).

En sección la estructura es lacunosa, con una o dos cavidades centrales, de 110 – 140  $\mu\text{m}$  de diámetro y numerosos alvéolos menores periféricos. La superficie de la cavidad central de la másula y de los alvéolos está tapizada por una lámina y presenta perforaciones (Lám. 12, fig. F). En las cavidades periféricas, algunas de las perforaciones llegan hasta la superficie de la másula.

Las microsporas se encuentran alojadas en alvéolos periféricos de la másula (Lám. 12, figs. F, G).

**Microsporas** (Lám. 12, figs. G, H)

Triletes, de 18 – 36  $\mu\text{m}$  de diámetro, esferoidales. Cada lesura es de 4 - 12  $\mu\text{m}$ . La superficie es rugulada (Lám. 12, fig. G) en ocasiones se encuentran verrugas sobre la superficie (Lám. 12, fig. H).

*Esporodermis*: (Lám. 12, fig. H)

En sección, está compuesta por el exosporio, de 0.5 – 0.8  $\mu\text{m}$  de espesor. Su espesor se incrementa en el área de unión de las lesuras hasta 1.5  $\mu\text{m}$ . (Lám. 12, fig. H). Observado al MEB es de aspecto homogéneo y compacto.

Observaciones: Las paredes de los mega- y microsporangios se encuentran con frecuencia fuertemente adheridas a las megasporas (Lám. 11, figs. C, E) o a las másulas (Lám. 12, fig. F). Para la observación de la superficie de estas estructuras es necesaria la remoción mecánica de la pared del esporangio.

## **Distribución**

Su área en América tropical se extiende desde México y Cuba hasta Chile y Argentina. El límite austral de su distribución se encuentra a la altura de la provincia de Buenos Aires (Argentina) y el sur de Uruguay. Dentro el área de estudio se ha citado la presencia de esta especie en las siguientes regiones (fig. VII):

**Argentina:** provincias de Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes, Santa Fe, Entre Ríos, Buenos Aires.

**Bolivia:** departamentos de Beni, La Paz, Santa Cruz.

**Brasil:** estados de Paraná, Santa Catarina, Río Grande do Sul.

**Chile:** región de Valparaíso

**Paraguay:** departamentos de Alto Paraguay, Boquerón, Central, Presidente Hayes, Cordillera, Paraguari, Ñeembucú.

**Uruguay:** departamentos de Artigas, Cerro Largo, San José, Maldonado, Canelones, Montevideo.

### ***Material estudiado:***

**ARGENTINA: Buenos Aires**, entre Junín y Mar Chiquita, s.f., *Guarrera 65652* (BA). Capital Federal, s.f., *Sanzín 596* (BA). Tigre, Ao. Caraguatá, 01/01/1950, *Weber-Bachmann 57976* (BA). **Corrientes**, Col. Carlos Pellegrini, Lag. Iberá, 27/12/1972, *Partridge 63300* (BA). San Cosme, 12/11/1934, *Burkart 6870* (SI). Dto. Mercedes, Iberá, canal de acceso a lag. Yacaré, 28° 42' S, 58° 01' W, 26/08/1996, *Arbo, Schinini, Maruñak y Paniagua Risueño 7896* (SI). **Chaco**, Col. Benítez, 10/02/1947, *Schulz 6695* (BAB). **Misiones**, Posadas, 01/05/1994, *Pérez y Guillén 172* (LP). Dto. Capital, Posadas, al lado del puente Posadas-Encarnación, 03/03/1996, *Pérez y Guillén 468* (LP). Posadas, 21/01/1907, *C. Spegazzini 21996* (BAB).

**BRASIL: Mato Grosso do Sul**, S.I., 28/01/1979, *Cabrera y Zardini 30033* (SI)

**BOLIVIA: La Paz**, Iturralde, Luisita, W del R. Beni, 02/03/1984, *Beck & Haase 10177* (LP)

**PARAGUAY:** Puerto Yataibá, 14/09/1928, *Daguerre 28/811* (BA). **Itapúa**, Trinidad, R. Paraguay, 03/08/1915. *Osten y Rojas 8441* (LP).

**URUGUAY:** S.l, s.f., s.n., s.n° (LP). S.l., 01/1941, *Diem 1303* (BAB). **Montevideo**, S.l., 02/1875, *Arechaveleta s.n°* (LP). S.l, s.f., *Felippone s.n°* (SI). **Cerro Largo**, Río Negro, Ea. Palleros, 01/1941, *Gallinal et al. PE-4741* (BAB).



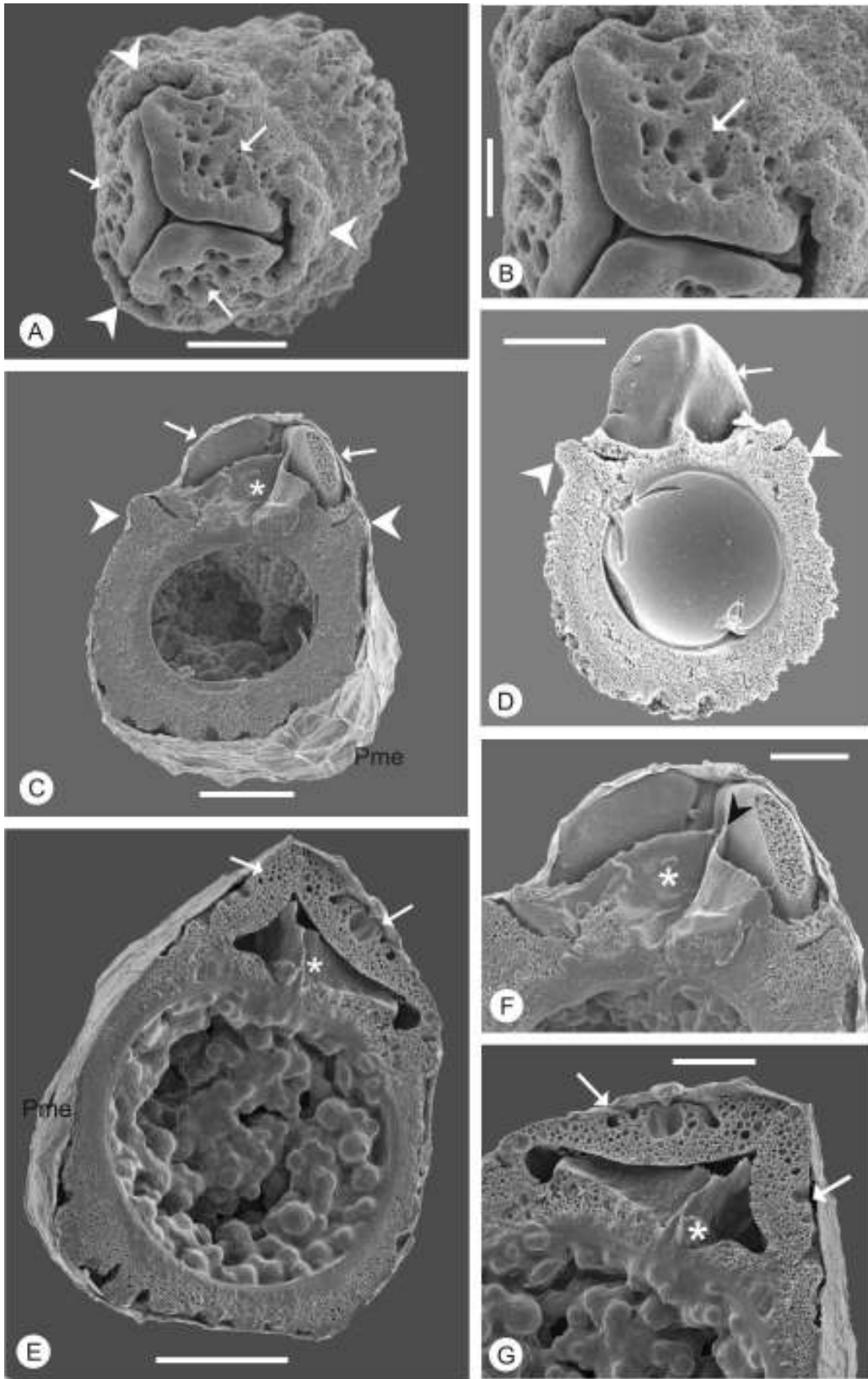


LÁMINA 11. Megasporas de *Salvinia auriculata* Aublet observadas con MEB. Ejemplar: Pérez y Guillén 172 (LP).

- A- Megaspóra en vista polar proximal. La superficie presenta lomos y perforaciones en las áreas ecuatorial y distal. Se observan tres facetas proximales (flechas), de superficie foveolada, con márgenes lisos y engrosamientos en las zonas de contacto (puntas de flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- B- Detalle del área proximal de la megaspóra en la fig. A. Escala: 50  $\mu\text{m}$
- C- Megaspóra en sección, el polo proximal se encuentra orientado hacia la parte superior de la imagen. La pared del megasporangio (Pme) se encuentra adherida a la superficie de la megaspóra. En la parte proximal se observan los engrosamientos de la pared en las zonas de contacto entre dos facetas (punta de flecha), la proyección trirradiada interna (asterisco) y dos de las facetas externas (flechas); la de la derecha está seccionada y queda expuesta su estructura lacunosa. Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- D- Megaspóra en sección, el polo proximal se encuentra orientado hacia la parte superior de la imagen. Se observa una de las facetas externas (flecha) y dos de los engrosamientos laterales de la pared (puntas de flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- E- Megaspóra en sección, con la pared del megasporangio (Pme) adherida a la superficie. El polo proximal se encuentra orientado hacia la parte superior de la imagen. La pared presenta mayor grosor en el área distal y una proyección compleja en el área proximal. La parte interna de la proyección es trirradiada (asterisco) y la parte externa está integrada por facetas de estructura lacunosa (flechas). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- F- Detalle de la parte proximal de la megaspóra en fig. C. Se observa que la proyección trirradiada central (asterisco) se encuentra parcialmente fusionada a las facetas externas (punta de flecha negra). Escala: 50  $\mu\text{m}$
- G- Detalle de la parte proximal de la megaspóra de la fig. E. Entre la proyección central interna (asterisco) y las facetas externas (flechas) existe un espacio. Escala: 50  $\mu\text{m}$

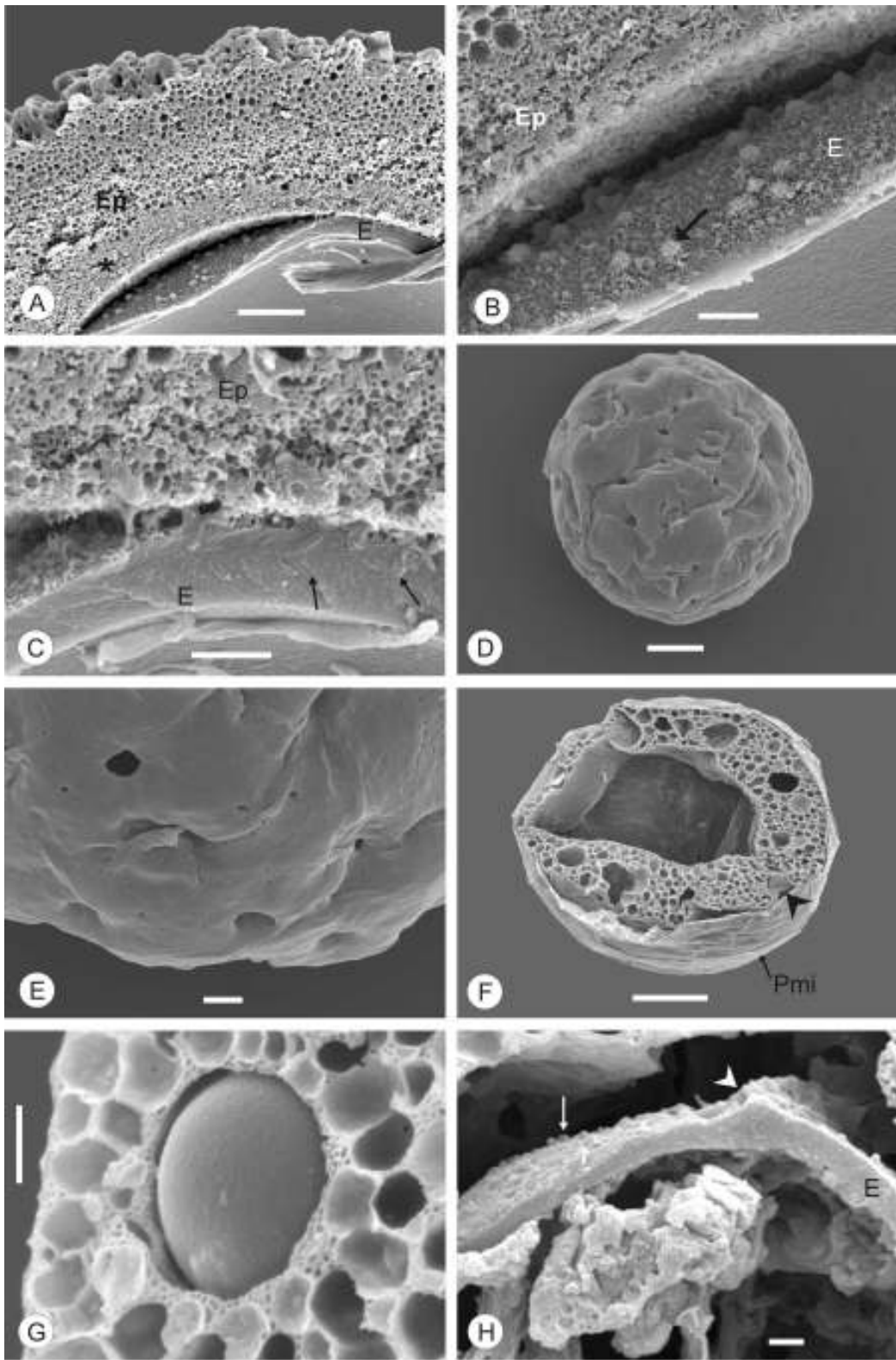


LÁMINA 12. Megasporas, másulas y microsporas de *Salvinia auriculata* Aublet observadas con MEB. Ejemplar: *Pérez y Guillén 172 (LP)*.

- A- Detalle de la megaspóra de la Lám. 11, fig. D. Sección de pared en el área distal de la megaspóra. Se observa el exosporio (E), parcialmente desprendido y el episporio (Ep), de estructura lacunosa, con alvéolos de menor diámetro en su parte más profunda (asterisco). En la parte superior se observa la superficie, con lomos y perforaciones. Escala: 20  $\mu\text{m}$ .
- B- Detalle de la fig. A, en la región de contacto exosporio (E)/episporio (Ep). Se observa la superficie externa del exosporio, con verrugas (flecha) y procesos cortos, delgados. Por encima del exosporio se encuentra el episporio interno (Ep), con estructura lacunosa. Escala: 5  $\mu\text{m}$
- C- Detalle de la fig. A, el exosporio (E) se observa en sección, con una estructura no homogénea (flechas) y el episporio (Ep), lacunoso, parcialmente desprendido del exosporio. Escala: 5  $\mu\text{m}$
- D- Másula, la superficie presenta lomos amplios y perforaciones. Escala: 50  $\mu\text{m}$
- E- Detalle de la másula de la fig. D. La superficie presenta perforaciones de diferentes diámetros. Escala: 10  $\mu\text{m}$
- F- Másula en sección, con la pared del microsporangio adherida a la superficie (Pmi). Hay una cavidad principal y varias menores, periféricas, de diversos diámetros. Las cavidades están tapizadas por una delgada lámina. En una de las cavidades periféricas se encuentra alojada una microspóra (punta de flecha). Escala: 50  $\mu\text{m}$
- G- Detalle de una microspóra incluida dentro de una másula. La superficie es rugulada. Escala: 5  $\mu\text{m}$ .
- H- Detalle de la parte proximal de una microspóra en sección. Se observa el exosporio (E), que está engrosado en la lesura (punta de flecha). La superficie de la microspóra es rugulada y con verrugas en las proximidades de las lesiones (flecha). Escala: 1  $\mu\text{m}$ .

### 3. 2. 4. *Salvinia biloba*

---

***Salvinia biloba* Raddi**, Pl. Bras. Nov. Gen. 1, 1: 4. 1825.

Tipo: Rio de Janeiro (PI)

*S. herzogii* de la Sota, Darwiniana 12: 514. 1962.

**Megasporas** (Lám. 13; lám. 14, figs. A – G; lám. 15)

Son triletes, de 281.8 – 435.7  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 300 – 339.3  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, con contorno circular y margen irregular en vista polar (Lám. 13, figs. A - C) y ovoides en vista ecuatorial (Lám. 14, figs. A, B; lám. 15, fig. A). La superficie de la megaspora es corrugada y presenta numerosas perforaciones de diámetro variable (Lám. 13, fig. F).

*Esporodermis* (Lám. 14, figs. C – G; lám. 15).

Exosporio: Es de color castaño al observarse al microscopio estereoscópico. En sección, es de 4 – 5.9  $\mu\text{m}$  de espesor. Con el MEB se observa la superficie verrucosa, con delicados procesos baculiformes distribuidos sobre las verrugas y entre ellas (Lám. 14, figs. D – F). Al MET se pueden distinguir dos capas (Lám. 15, figs. D, E). La capa interna es delgada, de 60 – 130 nm de espesor, fuertemente osmiofílica. La capa externa constituye la mayor parte del exosporio y presenta numerosos canales y cavidades en todo su espesor.

Episporio: Es de color blanco al microscopio estereoscópico. Es de 21.7 - 78  $\mu\text{m}$  de espesor y posee estructura lacunosa (Lám. 14, figs. A, B, C; lám. 15, figs. B, D). La superficie interna posee proyecciones ramificadas (Lám. 14, fig. G).

En sección, al MET, se pueden distinguir dos zonas, de acuerdo con el diámetro de los alvéolos. La zona interna es de grosor uniforme en toda la extensión de la megaspora, de 4.6 – 13.7  $\mu\text{m}$ , con alvéolos de 100 – 400 nm de diámetro (Lám. 14, fig. C; lám. 15, fig. D). La zona externa es de grosor variable, entre 17 – 71  $\mu\text{m}$ , con alvéolos de 2.1 – 3.2  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 14, fig. C; lám. 15, fig. D).

En la parte proximal de la espora se encuentra una estructura compleja; en superficie se observan tres facetas subtriangulares, con márgenes lobados (Lám. 13, figs. A – D; lám. 14, figs. A, B; lám. 15, fig. A). La parte interna está constituida por una proyección

trirradiada, de 60 – 90  $\mu\text{m}$  de altura (Lám. 13, figs. C – E; lám. 14, fig. A; lám. 15, fig. A). Entre la proyección interna y las facetas externas queda determinado un espacio (Lám. 13, figs. B, D; lám. 14, fig. A; lám. 15, fig. A).

En sección se observa al MEB que la estructura de ambas partes de esta proyección es lacunosa (Lám. 13, figs. C, E; lám. 14, fig. A). Con MET se puede distinguir que la parte interna presenta alvéolos de mucho menor diámetro (Lám. 15, figs. C, E).

#### **Másulas** (Lám. 14, fig. H)

Son cuerpos elipsoidales, de 144.6 – 212.2  $\mu\text{m}$  de longitud, de acuerdo a su eje mayor. En sección su estructura es lacunosa, con una o dos grandes cavidades centrales, de 70.2 – 96.9  $\mu\text{m}$  de diámetro y numerosos alvéolos menores, de diámetro variable. La superficie de la cavidad central de la másula y los alvéolos están tapizados por una membrana y presentan perforaciones. En algunos de estos alvéolos periféricos se alojan las microsporas.

#### **Microsporas** (Lám. 14, fig. I; lám. 16)

Triletes, de 15 – 26  $\mu\text{m}$  de diámetro, esferoidales. Cada lesura es de 7 – 11  $\mu\text{m}$  de longitud. Las microsporas presentan las lesuras orientadas hacia la superficie exterior de la másula. La superficie es rugulada y a nivel de las lesuras se observan crestas (Lám. 14, fig. I).

#### *Esporodermis* (Lám. 16)

Exosporio: Es de 0.7 – 0.9  $\mu\text{m}$  de espesor, incrementándose hasta 1.6  $\mu\text{m}$  en la unión de las tres lesuras. En sección, al MET, se distinguen dos capas. La capa interna es de 45 nm de espesor, continua en toda la microspora, fuertemente osmiofílica. En el área de la lesura esta capa es más gruesa. En la parte interna de la lesura se encuentran nódulos de material con contraste similar al del exosporio interno. La capa externa posee canales con forma de arco fusionados entre sí en su parte más profunda y hay canales simples de orientación radial hacia la superficie.

Sobre el exosporio se observó una capa delgada, formada por material de aspecto fibrilar, osmiofílico, que rodea toda la microspora y forma sobre las lesuras las crestas observadas en superficie.

Observaciones: En varias megasporas de los ejemplares *Forno s.n°* (Prov. de Santa Fe, Argentina) y *Forno 25c* las facetas proximales subtriangulares se encontraron separadas en diversos grados, en algunos casos dejando expuesta la proyección trirradiada interna (Lám. 13, figs. A - C). La apertura provoca la ruptura de la pared del megasporangio.

La observación de la superficie de megasporas y másulas se dificulta con frecuencia porque las paredes de mega- y microsporangios se encuentran fuertemente adheridas a estas estructuras.

### **Distribución**

La especie se distribuye dentro del área de estudio en la cuenca del Río de la Plata, noroeste de Argentina y centro, norte y oeste de Bolivia. El registro más austral de esta especie corresponde al sur de la prov. de Buenos Aires (Argentina). Su área de distribución se superpone en gran medida con las de *S. minima* y *S. auriculata*. Dentro del Cono Sur se ha citado la presencia de la especie en las siguientes regiones (fig. VII):

**Argentina:** provincias de Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes, Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos, Buenos Aires.

**Bolivia:** departamentos de Pando, Beni, La Paz, Santa Cruz.

**Brasil:** estados de Santa Catarina, Río Grande do Sul

**Chile:** región de Valparaíso

**Paraguay:** departamentos de Alto Paraguay, Cordillera, Central.

**Uruguay:** Departamentos de Treinta y Tres, Maldonado.

### **Material estudiado:**

**ARGENTINA:** **Buenos Aires**, Mar del Plata, lag. de Ponce, s.f., *Dickman s.n°* (SI). Isla Martín García, costa meridional, 28/07/1994, *Hurrell et al. 1824* (BAB). Delta, Ao. Carapachay, 04/1938, *Lichtenstein 1557* (SI). La Plata, Isla Santiago, 09/10/1906, *Pastore 103* (SI). Isla Martín García, 08/12/1920, *Spegazzini 23975* (BAB). **Corrientes**, Dto. San Cosme, Ruta 12 y acceso a Paso de los Libres, 04/04/1995, *Pellegrini 18* (LP). **Chaco**, Dto. 1° de Mayo, cerca del R. Traguadero, 01/11/1986, *Charpin & Eskuche 20111* (SI). **Formosa**, Guayaculee, 04/1919, *Jorgensen 3348* (BA). **Santa Fe**, brazo del Paraná, 03/1938, *Burkart 9099* (SI). S.l. 21/04/1980, *Forno s.n°* (LP). **Misiones**, Cataratas del

Iguazú, 01/11/1946, *Capurro 43834* (BA). Dto. Iguazú, Ao. Tipicúa, 27/01/1983, *Guaglianone, Tur y Carrillo 1035* (SI)

**BRASIL: Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, BR116 Km 18,08/06/1978, *Forno 25c* (LP). Cabo Frío, 21/04/1978, *Forno 33c* (LP). Pelotas, 17/03/1981, *Forno s.n°* (LP). S.l., 1897, *Reineck 39* (SI)

**CHILE: Región de Valparaíso**, Limache, 28/05/1961, *Looser 5791* (SI)

**PARAGUAY: Central**, Asunción, 07/1938, *Rojas 838* (SI). Lago Ipacaray, 12/1913, *Hassler 12418* (LP)

**URUGUAY: Maldonado**, S.l., 03/1981, *Gamerro s.n°* (LP). **Treinta y Tres**, Vergara, 1935, *Herter 1609* (SI)



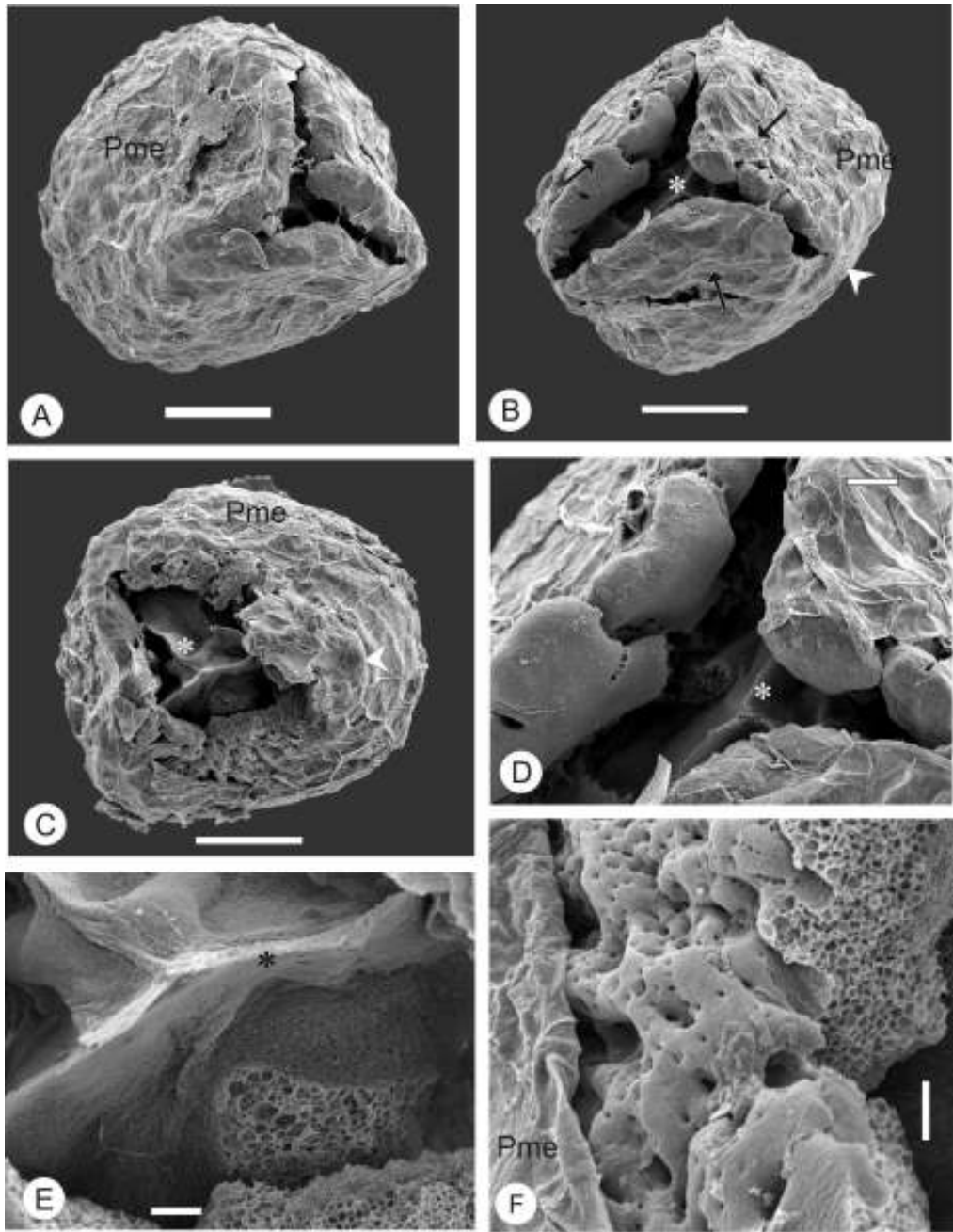


LÁMINA 13. Megasporas de *Salvinia biloba* Raddi observadas con MEB.

- A- Megaspora en vista polar proximal, cubierta por la pared del megasporangio (Pme), parcialmente desgarrada. Las facetas proximales se encuentran apenas separadas. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Forno 25c* (LP).
- B- Megaspora en vista polar proximal. La megaspora está cubierta por la pared del megasporangio (Pme), reticulada. Se observan las tres facetas proximales (flechas), parcialmente separadas, dejando ver la proyección interna (asterisco) y uno de los engrosamientos en la zona de contacto entre facetas (punta de flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Forno 25c* (LP).
- C- Megaspora en vista polar proximal, cubierta por la pared del megasporangio (Pme) y con las facetas proximales parcialmente separadas. Las facetas presentan áreas fracturadas que permiten observar en el interior la proyección central interna trirradiada (asterisco). Por debajo de la pared del megasporangio se evidencia un engrosamiento que corresponde al área de contacto de dos facetas (punta de flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n°* (LP).
- D- Detalle de la megaspora de la fig. B. Las facetas externas de la proyección proximal tienen márgenes lobados, la parte interna trirradiada (asterisco) se observa por debajo. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Forno 25c* (LP).
- E- Detalle de la megaspora de la fig. C. Se observa la proyección central en el área proximal (asterisco), conformada por tres tabiques radiales, que se angostan hacia su parte superior. En a parte inferior se evidencia la estructura lacunosa en un sector fracturado. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n°* (LP).
- F- Detalle de la superficie de la megaspora, con lomos y perforaciones de diferentes diámetros. En la parte izquierda de la imagen se observa la pared del megasporangio (Pme), parcialmente desprendida. Hacia la derecha se observa la pared fracturada. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n°* (LP).

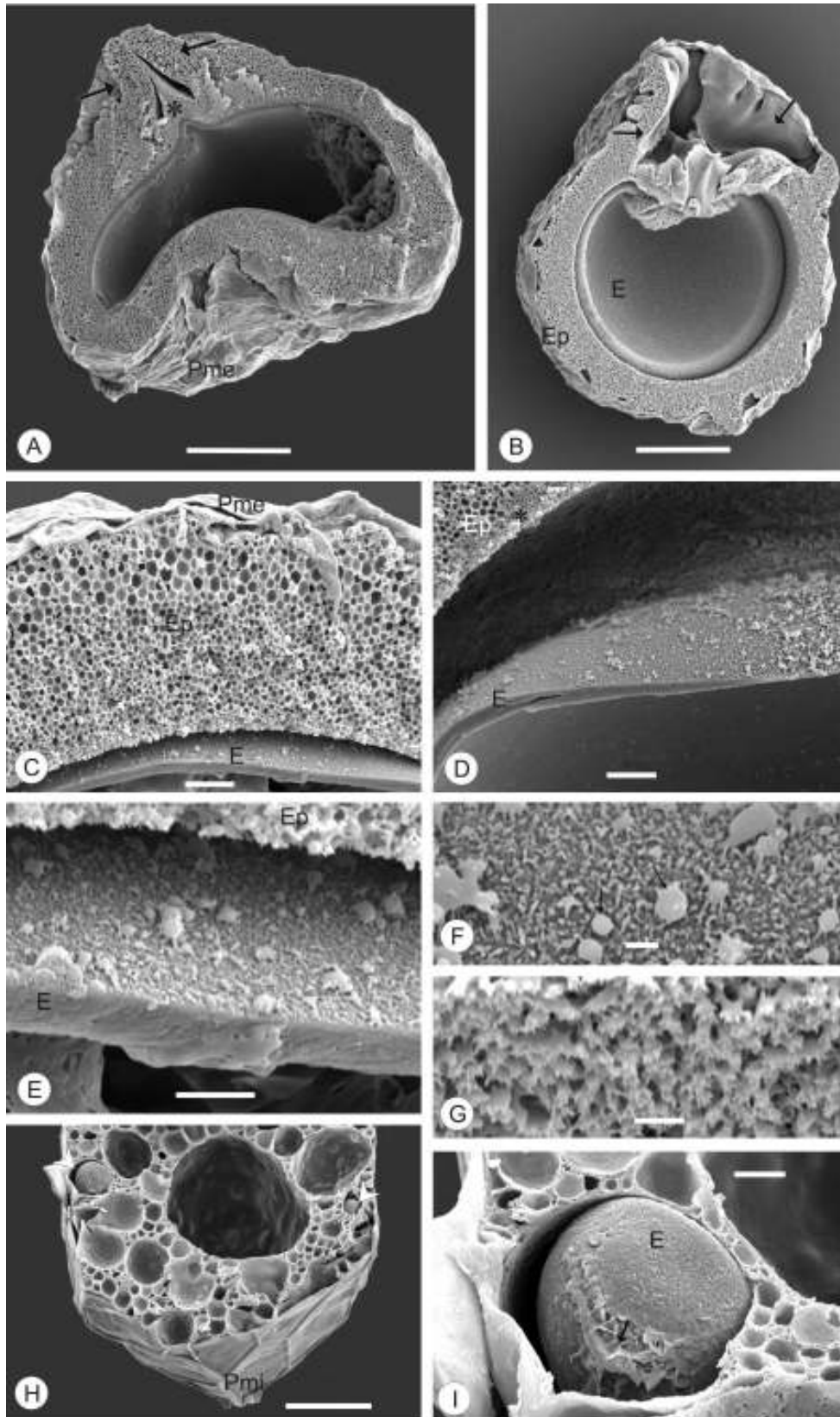


Lámina 14

LÁMINA 14. Megasporas, másulas y microsporas de *Salvinia biloba* Raddi observadas con MEB

- A- Megaspóra en sección, en vista ecuatorial, con la zona proximal orientada hacia la parte superior de la figura. La pared del megasporangio (Pme) está adherida a la superficie de la megaspóra. En el sector proximal se observan la parte interna de la proyección (asterisco) y dos de las facetas externas (flechas). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n<sup>o</sup>* (LP).
- B- Megaspóra en sección, en vista ecuatorial, con la parte proximal orientada hacia la parte superior de la figura. El exosporio (E) se encuentra hundido y parcialmente separado del episporio (Ep). Se observan las facetas proximales (flechas), en una de ellas se distingue el margen lobado; en la de la izquierda, seccionada, se evidencia la estructura lacunosa. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n<sup>o</sup>* (LP).
- C- Megaspóra, pared en sección. Se observan el exosporio (E) y el episporio (Ep). Sobre la superficie se encuentra adherida la pared del megasporangio (Pme). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n<sup>o</sup>* (LP).
- D- Fractura de la pared que muestra el exosporio (E) en sección y superficie y parte del episporio (Ep). En el episporio se observa una zona inferior con alvéolos de menor diámetro (asterisco). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Forno 25c* (LP)
- E- Detalle de la pared en sección. El exosporio (E) está desprendido del episporio (Ep). La superficie del exosporio presenta verrugas y procesos delgados distribuidos irregularmente. Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n<sup>o</sup>* (LP).
- F- Detalle de la superficie del exosporio, con verrugas (flechas) y delicados procesos baculiformes. Escala: 1  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n<sup>o</sup>* (LP).
- G- Detalle de la parte interna del episporio, con proyecciones ramificadas distalmente. Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n<sup>o</sup>* (LP).
- H- Parte de una másula en sección. Sobre la superficie de la másula se encuentra la pared del microsporangio (Pmi) adherida, en la parte inferior de la imagen se observa que esta pared es reticulada. En el interior de la másula, en dos de los alvéolos periféricos, se encuentran microsporas (puntas de flecha). Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n<sup>o</sup>* (LP).

- I- Detalle de una de las microsporas de la fig. H. Se observa la superficie del exosporio rugulada, con delicadas crestas en las proximidades y sobre las lesuras (flecha).  
Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Forno s.n<sup>o</sup>* (LP).

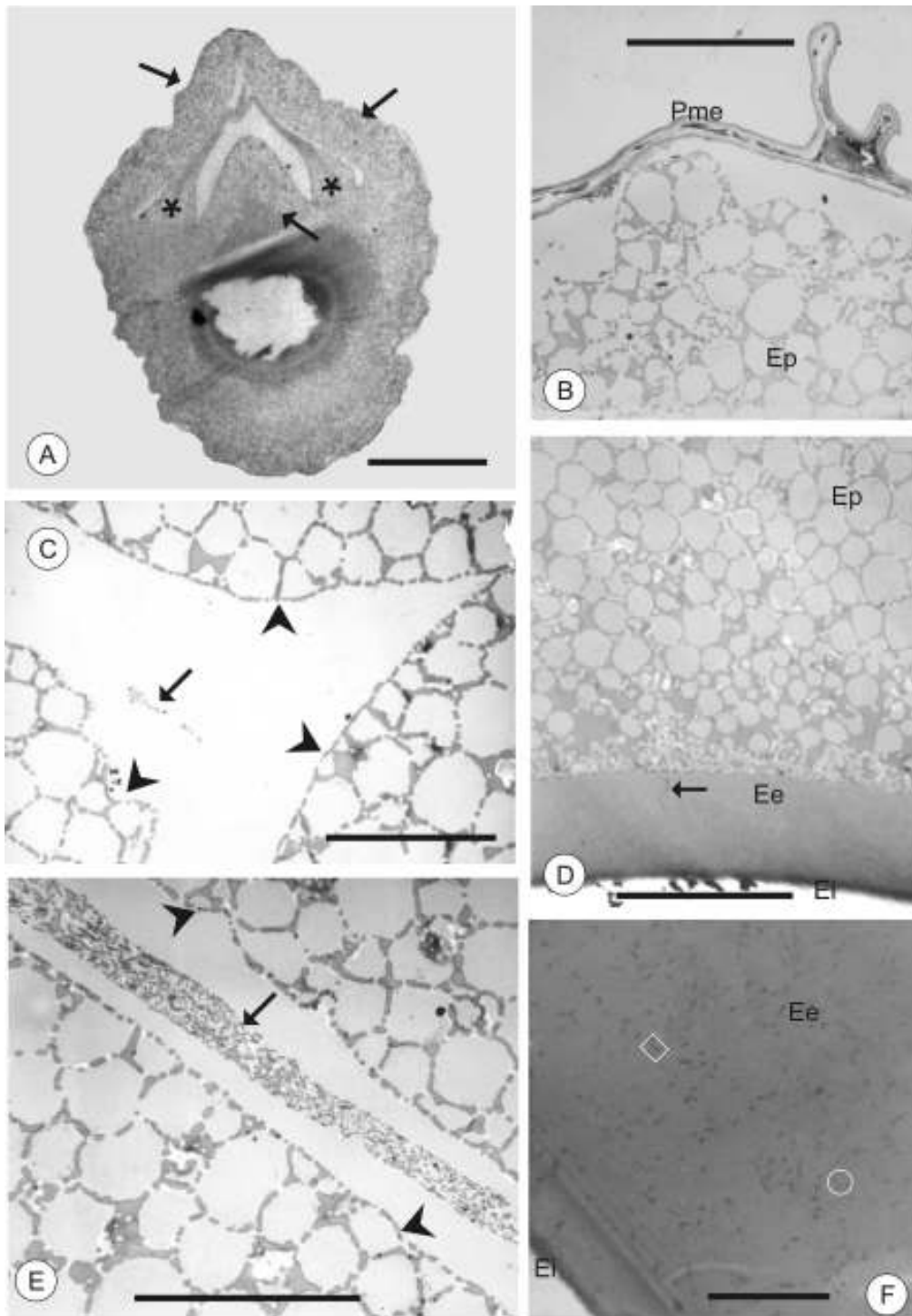


LÁMINA 15. Megasporas de *Salvinia biloba* observadas con MO y MET. Ejemplar: *Forno 25c* (LP)

- A- Megaspóra en sección, con la parte proximal orientada hacia arriba. Se observan las facetas proximales (flechas), dos de ellas se en sección longitudinal mientras que la tercera (hacia el centro) fue seccionada oblicuamente. Se observan además dos ramas de la proyección interna (asteriscos). Escala: 100  $\mu\text{m}$
- B- Sección que documenta la parte más externa de la pared. Desde afuera hacia adentro se observa la pared del megasporangio (Pme), bilamelada y con proyecciones y por debajo el episporio (Ep), de estructura lacunosa. Escala: 10  $\mu\text{m}$
- C- Sección transversal de la parte proximal de la megaspóra. La estructura de las tres facetas (puntas de flecha) es lacunosa, con numerosas perforaciones en los tabiques de los alvéolos. En el centro de la imagen se observa parte de la proyección trirradiada central (flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$
- D- Sección de la parte interna de la pared de la megaspóra. El exosporio posee una capa interna (Ei) continua, electrodensa, delgada y una capa externa (Ee) de mayor espesor, con canales (flecha). Por encima se ubica el episporio (Ep) lacunoso, con una zona interna con alvéolos de menor diámetro. Existen áreas lameladas entre alvéolos. Escala: 10  $\mu\text{m}$
- E- Sección transversal de la parte proximal de la megaspóra, en una sección a nivel más profundo que la de la fig. C. Son visibles dos de las facetas externas (puntas de flecha); en el centro se observa parte de la proyección trirradiada interna (flecha). La estructura de ambos componentes es lacunosa, pero la parte interna de la proyección presenta alvéolos de menor diámetro. Escala: 10  $\mu\text{m}$
- F- Detalle del exosporio. La capa interna (Ei) es delgada y electrodensa. La capa externa (Ee) presenta espacios con contenido osmiofílico. Algunos de estos espacios fueron seccionados longitudinalmente (rectángulo) y otros de manera transversal (círculo). Escala: 1  $\mu\text{m}$

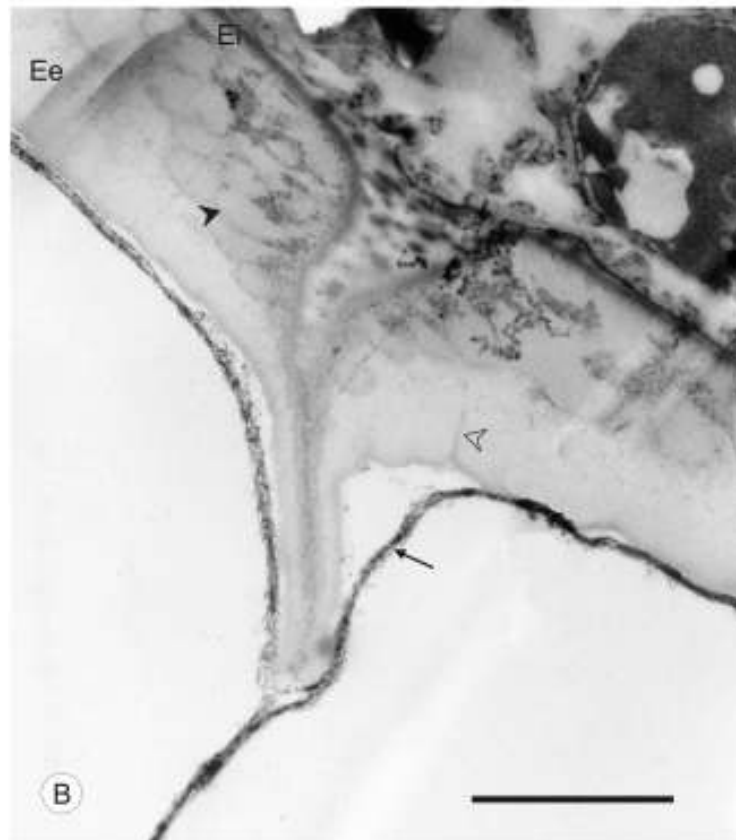
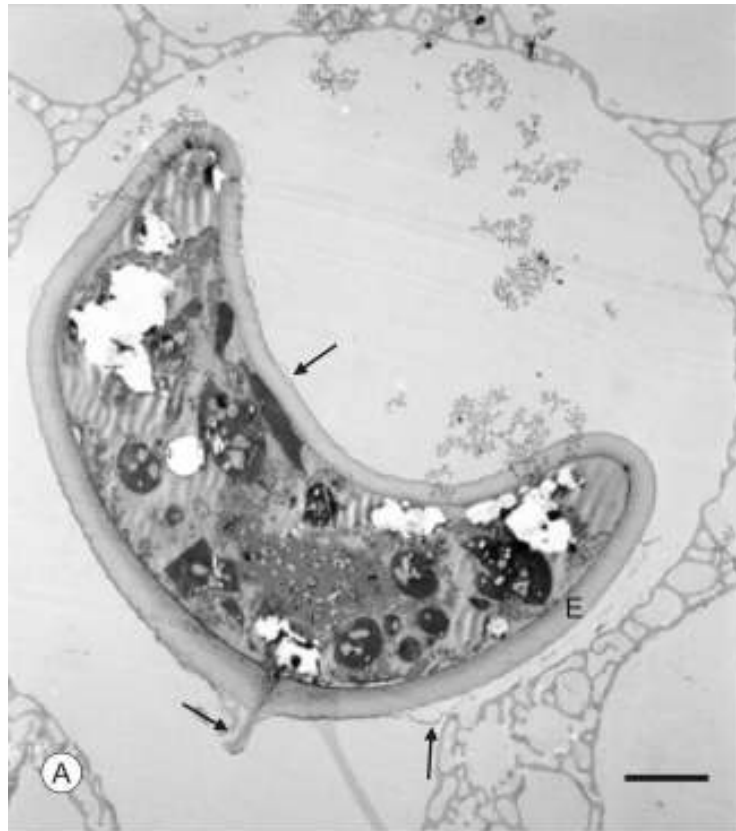




LÁMINA 16. Microsporas de *Salvinia biloba* Raddi observadas con MET. Ejemplar: *Forno 25c* (LP)

- A- La pared de la microspora posee un exosporio (E) de margen irregular, de mayor espesor en el área de la lesura. La superficie del exosporio se encuentra cubierta por una capa delgada, electrodensa, parcialmente desprendida en algunas áreas (flechas). La microspora está rodeada por la estructura lacunosa de la másula. Escala: 5  $\mu\text{m}$
- B- Detalle de la pared de otra microspora a nivel de la lesura. La capa interna del exosporio (Ei) es homogénea, delgada y electrodensa. La capa externa (Ee) presenta en su parte más profunda un sistema de canales fusionados formando arcos (puntas de flecha). Canales simples se abren hacia la superficie (punta de flecha transparente). En la base de la lesura se evidencian nódulos de material con un contraste similar al del exosporio interno. Sobre la superficie del exosporio se encuentra una capa delgada, conformada por fibrillas de material electrodensa (flecha). Escala: 1  $\mu\text{m}$

### 3. 2. 5. *Salvinia minima*

---

***Salvinia minima* Baker**, J. Bot. 24: 98. 1886.

Tipo: Mueller 479; Brasil, Santa Catarina, Itajahy (holotipo: K, isotipo: BM)

*S. rotundifolia* auct. non Willd.

#### **Megasporas** (Lám. 17)

Son triletes, de 178.6 – 294  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 188.1 – 294.5  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, con contorno circular y margen irregular en vista polar y contorno romboidal a ovoide en vista ecuatorial (Lám. 17, figs. A, C, F). La superficie presenta lomos bajos y perforaciones (Lám. 17, fig. B). Las perforaciones son de diámetro variable, desde 100 nm hasta 5  $\mu\text{m}$  y se distribuyen más densamente en el área ecuatorial (Lám. 17, fig. A).

*Esporodermis* (Lám. 17, figs. C - E).

Exosporio: Es de color castaño al observarse con microscopio estereoscópico. Al MEB, en sección es de aspecto homogéneo, de 3.2 – 6  $\mu\text{m}$  de espesor (Lám. 17, fig. E).

Episporio: Al microscopio estereoscópico es de color blanco. Observado en cortes al MEB es de estructura lacunosa, de 11.1 – 74  $\mu\text{m}$  de espesor, con dos zonas diferenciables por el diámetro de sus alvéolos (Lám. 17, fig. E). La zona interna es de 2.6 – 9.1  $\mu\text{m}$  de espesor, con alvéolos de 300 a 600  $\mu\text{m}$  de diámetro. La zona externa constituye la parte principal de la pared. Es de espesor variable en diferentes áreas de la spora, desde 5.5 – 65  $\mu\text{m}$  y tiene alvéolos de 2 – 7.2  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 17, figs. C, E).

Proximalmente la megaspora presenta una proyección compleja, con dos partes. En superficie se observan tres facetas subtriangulares (Lám. 17, fig. A). Estas pueden estar en algunos ejemplares reducidas a proyecciones laterales romas (Lám. 17, figs. C, D, F). Las áreas entre estas extensiones están engrosadas. Internamente hay una proyección central, con un estrecho canal abierto a la superficie (Lám. 17, fig. D).

#### **Másulas** (Lám. 18, figs. A – D)

Son cuerpos esferoidales a elípticos, de 150 – 197  $\mu\text{m}$  de longitud de acuerdo a su eje mayor (Lám. 18, figs. A, B).

En sección su estructura es lacunosa, con una o dos grandes cavidades centrales, de 44 – 123  $\mu\text{m}$  de diámetro y numerosos alvéolos menores de diámetros variables (Lám. 18, fig. B). La superficie de la cavidad central y de todos los alvéolos de la másula están tapizados con una membrana y presentan perforaciones de diámetros variables. Las microsporas se alojan dentro de algunos de los alvéolos mayores, de posición periférica (Lám. 18, fig. B - D).

### **Microsporas** (Lám. 18, fig. D)

Triletes, esferoidales, de 16 – 36  $\mu\text{m}$  de diámetro. Cada lesura es de 6 – 14  $\mu\text{m}$  de longitud. En los casos en que se observan las microsporas en secciones de másulas al MEB, las lesuras se encuentran orientadas hacia la superficie externa de la másula. La superficie es rugulada, con escasas perforaciones distribuidas irregularmente. En ocasiones pueden observarse crestas sobre la superficie. Hacia el área de las lesuras la ornamentación es más marcada.

*Esporodermis*: En sección, la esporodermis está constituida por exosporio de 0.5 – 0.9  $\mu\text{m}$  de espesor, engrosada hasta 2  $\mu\text{m}$  en las lesuras.

Observaciones: Con frecuencia la pared del megasporangio se encuentra adherida fuertemente a la pared de la megaspora, al igual que la pared del microsporangio se adhiere a la másula. Esto dificulta las observaciones de la superficie de megasporas y másulas.

### **Distribución**

La especie se distribuye desde el SE de Estados Unidos, México, Centroamérica hasta Argentina y Uruguay. Su límite austral se encuentra a la altura de la provincia de Buenos Aires (Argentina). La distribución de esta especie coincide en gran medida con la de *Salvinia auriculata* y *S. biloba*. Su presencia en el Cono Sur se ha citado en las siguientes regiones (fig. VII):

**Argentina**: provincias de Formosa, Misiones, Santiago del Estero, Corrientes, Santa Fe, Entre Ríos, Buenos Aires. Citas dudosas (material estéril): Salta, Córdoba.

**Bolivia:** departamentos de Beni, La Paz, Santa Cruz

**Brasil:** estados de Santa Catarina, Río Grande do Sul

**Paraguay:** departamentos de Canindeyú, Cordillera, Central, Paraguari

**Uruguay:** departamento de Río Negro

***Material estudiado:***

**ARGENTINA:** Buenos Aires, Cultivada Jard. Bot. Fac. Agron., proced. de la Isla Martín García, 22/03/1932, *Burkart 4554* (SI). Punta Lara, 01/11/1942, *Pérez-Moreau 43380* (BA). Corrientes, Esquina, Col. Libertador, Ao. Barrancas, 15/03/1975, *Krapovickas 27829* (LP). Dto. Mburucuyá, Ea. Santa Teresa, 28/11/1951, *Pedersen 1356* (LP). Entre Ríos, Concepción del Uruguay, Lag. de Ea. Calvendas, 12/1878, *Lorentz 1753* (LP). Formosa, Dto. Pilcomayo, S de Clorinda, 20/08/1946, *Morel 1125* (LP). Dto. Pilcomayo, 06/01/1980, *Guaglianone, Sancho y Zuloaga 391* (SI). Dto. Pilcomayo, 06/01/1980, *Guaglianone, Sancho y Zuloaga 415* (SI). Santa Fe, bajos del R. Salado, 25/11/1938, *Burkart 9072* (SI). Helvetia, 05/04/1958, *Capurro 58227* (BA). Capital, Lag. Guadalupe o Setúbal, 30/12/1990, *Tur 2053* (SI).

**BRASIL: Rio Grande do Sul,** Pelotas BR 471 Km 3, 06/06/1978, *Forno 48c* (LP)

**PARAGUAY: Central,** Asunción, 20/01/1908, *Hicken 4* (SI)

**URUGUAY:** S.l., s.f., *Felippone s.n°* (SI)

Comentario general para todas las especies:

Durante la preparación de las esporas para su estudio al microscopio óptico se realizaron intentos de centrifugar megasporas y másulas de *Salvinia auriculata*, *S. biloba* y *S. minima*. En todos los casos se observó la persistencia del material en la superficie del líquido.

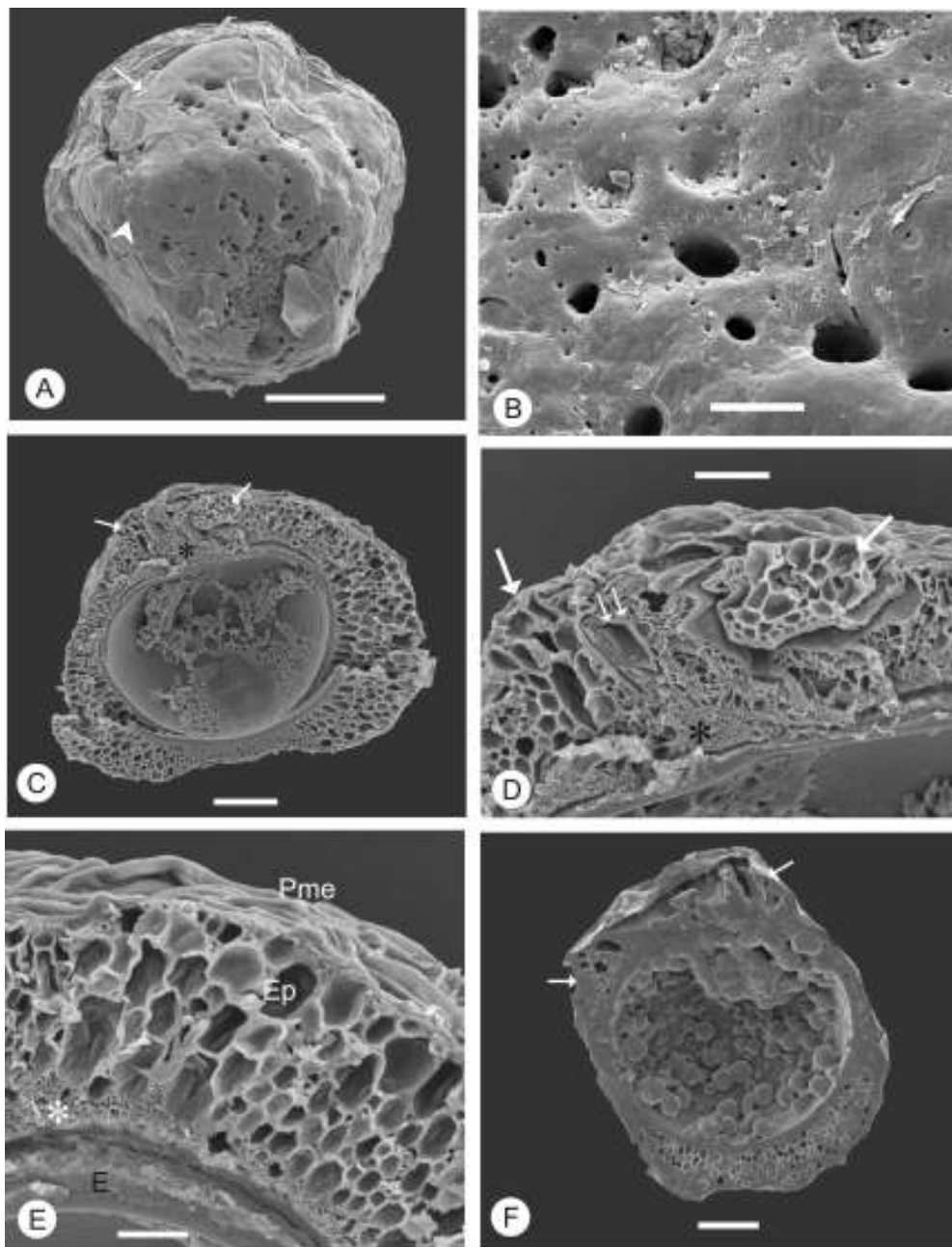


LÁMINA 17. Megasporas de *Salvinia minima* Baker observadas con MEB.

- A- Megaspóra en vista ecuatorial, el polo proximal está orientado hacia la parte superior de la figura. La superficie presenta lomos y perforaciones de variados diámetros; en el área ecuatorial se encuentra una mayor concentración de perforaciones. Se observa una de las facetas proximales (flecha) y una de las áreas engrosadas de contacto entre facetas (punta de flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Guaglianone, Sancho y Zuloaga 415* (SI).
- B- Detalle de la superficie, con perforaciones de variado diámetro. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Guaglianone, Sancho y Zuloaga 415* (SI).
- C- Megaspóra en sección, en vista ecuatorial, el polo proximal está orientado hacia la parte superior de la imagen. La pared es de espesor variable en las distintas áreas de la megaspóra. En el área proximal se observan la parte interna de la proyección (asterisco) y dos de las facetas externas (flechas). Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Burkart 4554* (SI).
- D- Detalle del área proximal de la megaspóra de la fig. C. Se distingue una proyección central (asterisco), la cual presenta un canal (doble flecha) abierto hacia la superficie de la megaspóra. A ambos lados se encuentran áreas de estructura lacunosa que forman las facetas externas (flechas). Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Burkart 4554* (SI).
- E- Detalle de sección de la pared de la megaspóra de la fig. C. El exosporio (E) se observa homogéneo y compacto. El episporio (Ep) es lacunoso, con alvéolos de menor diámetro en su parte más profunda (asterisco). La pared del megasporangio (Pme), reticulada, está firmemente adherida a la superficie de la megaspóra. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Burkart 4554* (SI).
- F- Megaspóra en sección, en vista ecuatorial. En esta megaspóra la pared es de espesor variable en las diferentes áreas, más delgada en la zona ecuatorial y de mayor grosor en el área distal. Se observan dos expansiones romas laterales (flechas) en el área proximal. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Krapovickas 27829* (LP).

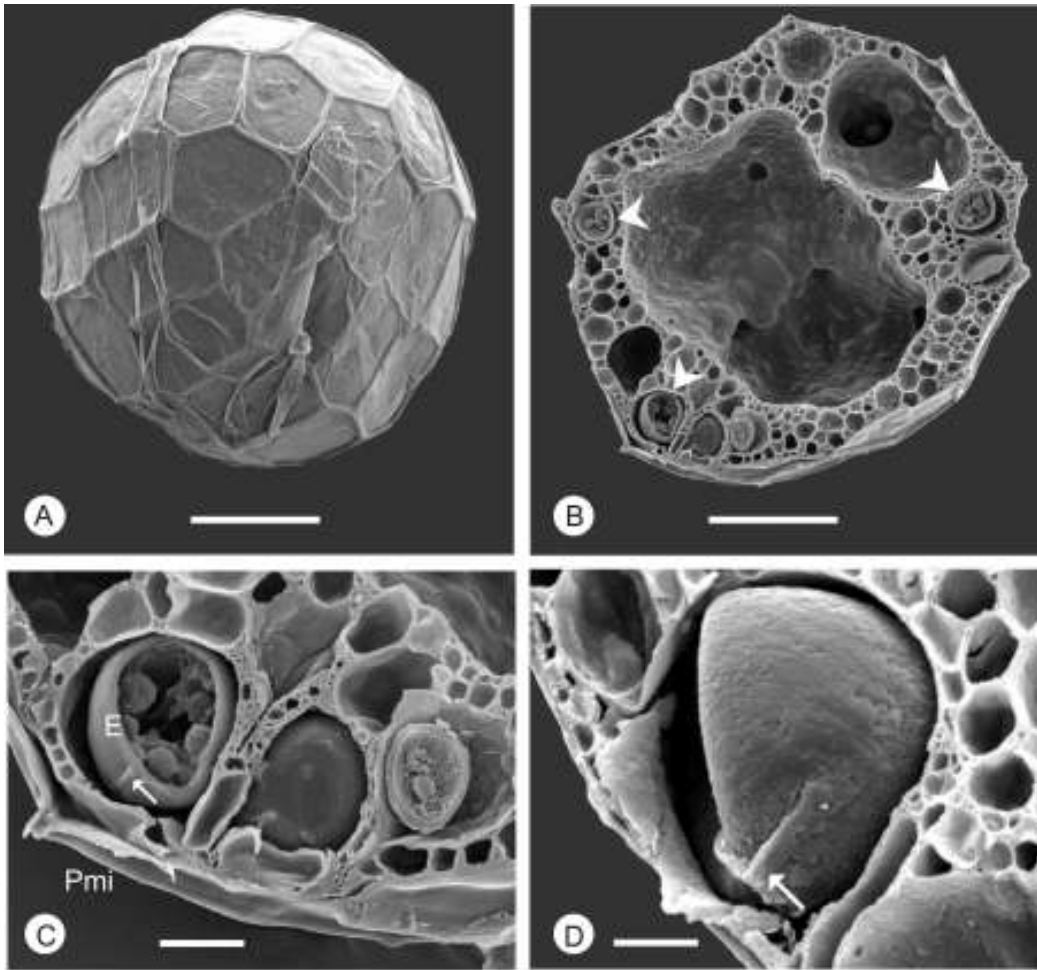


LÁMINA 18. Másulas y microsporas de *Salvinia minima* Baker observadas con MEB

- A- Másula cubierta por la pared reticulada del microsporangio. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Tur 2053* (LP).
- B- Másula en sección, de contorno subcircular. Se observan dos grandes cavidades principales, tapizadas por una membrana, con grandes perforaciones y alvéolos de menor diámetro, periféricos. Las microsporas se encuentran alojadas en algunos de los alvéolos periféricos (puntas de flecha). Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Krapovickas 27829* (LP).
- C- Detalle de tres de los alvéolos en la fig. B donde se observan microsporas. En la microspora ubicada hacia la izquierda de la figura se observa el exosporio (E) seccionado y parte de una de las lesuras (flecha). La estructura de la másula presenta alvéolos de diferentes dimensiones y sobre la superficie se encuentra adherida la pared del microsporangio (Pmi). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Krapovickas 27829* (LP).
- D- Detalle de una microspora dentro de la másula. La superficie es rugulada, con ornamentación más marcada en las proximidades de las lesuras (flecha) y algunas perforaciones. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Morel 1125* (LP).





Figura VII. Distribución de las especies de *Salvinia* en el Cono Sur de Sudamérica

### 3. 2. 6. Discusión

---

Los especímenes observados de *Salvinia adnata* tienen megasporangios y microsporangios pequeños, oscuros y vacíos. Estas observaciones coinciden con las de Mitchell & Thomas (1972), que estudiaron material de esta especie (bajo el nombre de *Salvinia molesta* Mitchell) proveniente de Rio de Janeiro (Brasil), Sri Lanka y Botswana y con las de de la Sota (2001), quien examinó especímenes del sudeste de Brasil.

En general, en las descripciones previas de megasporas de *S. auriculata* se mencionaban su forma y dimensiones, las cuales responden a las observaciones del presente trabajo. Tryon & Lugardon (1991) compararon las megasporas con las correspondientes a *Azolla*, y resaltaron la semejanza entre ambas, aunque consideraron que en *Salvinia* las megasporas presentan menor complejidad. Lupia et al. (2004) señalaron al referirse a las especies actuales de *Salvinia* que las megasporas poseen una “acrolamela tripartita”, comparable a la columna de *Azolla*, pero no profundizaron detalles en la estructura de esta proyección proximal.

Las estructuras proximales de *S. auriculata*, *S. biloba* y *S. minima* podrían compararse con las mencionadas para algunas especies fósiles. Serían similares a las descritas por Jain & Hall (1969) en *S. aureovallis* del Eoceno de Dakota del Norte (Norteamérica). De acuerdo a estos autores, en la parte basal de la proyección proximal habría un canal estrecho, que sería comparable con el observado en este estudio en las megasporas de *S. minima*. También las facetas proximales observadas en superficie de las megasporas de las especies del Cono Sur aquí estudiadas serían semejantes a las descritas por Martin (1976b), sobre material fósil de *S. cobhamii*, provenientes de sedimentos lacustres del Paleoceno Superior del Reino Unido.

La ornamentación de las megasporas de *Salvinia auriculata*, *S. biloba* y *S. minima* difiere de las descritas para las especies fósiles asignadas al género. Sin embargo, en las megasporas de *Salvinia cerebrata* (Mioceno Medio) descritas por Friis (1977) podría existir un patrón semejante de distribución de los elementos superficiales. Tanto en esta especie fósil como en las actuales aquí descritas, independientemente de los elementos que se observen en superficie, la ornamentación es siempre más marcada en el área ecuatorial.

La presencia de dos capas en el exosporio de las megasporas en *Salvinia biloba*, una interna delgada y otra externa con canales y cavidades, coincide con las observaciones de Lugardon & Husson (1982), sobre megasporas de *S. natans* y de Lugardon (1972, 1974) en helechos isosporados, quienes lo denominaron exosporio de tipo “blechnoide”.

La estructura lacunosa del episporio en *S. auriculata*, *S. biloba* y *S. minima* se ha observado también en otras especies del género, tanto fósiles como actuales. En *S. natans*, según Stafford (2003), se diferencia una zona interna del episporio con alvéolos mayores, mientras que el tamaño de éstos decrece hacia la periferia. En *S. oblongifolia*, estudiada por de la Sota (1962a), los alvéolos van haciéndose progresivamente mayores hacia la periferia de la espora. En la especie fósil *S. cerebrata*, descrita por Friis (1977) la estructura también es lacunosa, con una gruesa zona basal de alvéolos de reducido tamaño y otra de alvéolos más grandes periféricos. Independientemente de las variaciones en el diámetro de los alvéolos y su posición relativa en el episporio, todos estos ejemplos responden a un mismo tipo de estructura lacunosa característica del género.

Las variaciones observadas en la orientación de las facetas proximales en *Salvinia biloba*, desde completamente cerradas hasta separadas, exponiendo la proyección interna, coincidirían con observaciones previas de Nasu & Seto (1976). Estos autores observaron morfologías semejantes en *S. natans* y las relacionaron con diferentes estadios del proceso germinativo.

La morfología general y la estructura lacunosa de las másulas en *Salvinia auriculata*, *S. biloba* y *S. minima*, con una o dos cavidades centrales principales, coinciden con las descripciones generales hechas por Tryon & Lugardon (1991) para la primera de estas especies. La estructura interna de las másulas es semejante a la de *Salvinia oblongifolia* (De la Sota, 1962a), del norte de Brasil. Las características anteriormente mencionadas de las másulas de las especies actuales de *Salvinia spp.* del Cono Sur son además indistinguibles de aquéllas de *Salvinia sp.* descritas por Batten & Collinson (2001), provenientes de sedimentos datados en el límite Paleoceno/Eoceno del norte de Europa.

La morfología de las microsporas de todas las especies y su estructura coinciden con las descritas por Bonnet (1955) para *Salvinia auriculata* y son semejantes a las de *S. natans* descritas por Tryon & Lugardon (1991) y Stafford (2003). El exosporio presenta dos capas y coincide con la estructura “blechnoide” observada por Lugardon & Husson (1982) en

microsporas de *S. natans* y por Lugardon (1972, 1974) en esporas de helechos isosporados. Sin embargo, la capa fibrilar, electrodensa, observada con MET sobre las microsporas de *Salvinia biloba* no ha sido mencionada por otros autores.

### 3. 3. MARSILEACEAE

---



### 3. 3. 1. Consideraciones generales

---

Dentro de las Filicophyta, Marsileaceae constituye la familia más grande de helechos heterosporados. Los primeros registros de fósiles de representantes de los géneros vivientes se encuentran desde el Terciario inferior (Eoceno) y generalmente corresponden a mega- y microsporas. Estudios filogenéticos llevados a cabo con datos morfológicos y moleculares consideraron a Marsileaceae como un grupo monofilético (Rothwell & Stockey, 1994; Pryer et al., 1995; Hasebe et al., 1995; Pryer, 1999). La mayoría de estos autores propusieron una relación más estrecha entre *Pilularia* y *Regnellidium*, mientras ubicaron a *Marsilea* como un grupo hermano de los anteriores.

La morfología, estructura de las paredes y la secuencia del desarrollo de las esporas de *Regnellidium diphyllum* fueron descritas por Chrysler & Johnson (1939) utilizando el microscopio óptico.

Pettitt (1966) analizó con MO la estructura y con MET la ultraestructura de las mega- y microsporas de *Marsilea quadrifolia* y *M. drummondii*. El mismo autor describió el desarrollo de las megasporas de *M. drummondii* (Pettitt, 1971) y el de las microsporas en *M. drummondii*, *M. fimbriata* y *M. glomerata* (Pettitt, 1979).

Tryon & Tryon (1982) analizaron con MEB las esporas de *Pilularia americana*, *Regnellidium diphyllum* y *Marsilea macropoda*. Presentaron imágenes de las esporas observadas en superficie e hicieron referencia a la estructura de las paredes basados en descripciones previas de otros autores.

En su estudio taxonómico de las especies de *Marsilea* que crecen en América, Johnson (1986) incluyó una descripción general de la forma de mega- y microsporas del género y estimó las dimensiones de las esporas de cada especie.

Large & Braggins (1989) realizaron un estudio comparativo de la morfología externa (forma y dimensiones) de las esporas en algunas especies de *Pilularia*, entre ellas las correspondientes a *P. americana*.

Tryon & Lugardon (1991) describieron las esporas de *P. americana*, *Regnellidium diphyllum* y las de algunas especies de *Marsilea* no presentes en el área de estudio (*M. drummondii*, *M. macropoda* y *M. strigosa*). Asimismo aportaron detalles de la ultraestructura de las paredes a partir de observaciones con MET. Los autores mencionaron

la idea de que la heterosporia en *Marsilea* se manifiesta en las diferencias en el número y tamaño de cada tipo de esporas producidas.

Schneider & Pryer (2002) realizaron un estudio comparativo abarcando 34 especies de Marsileaceae. Entre ellas incluyeron a *Pilularia americana*, *Regnellidium diphyllum*, *Marsilea ancylopoda*, *M. crotophora*, *M. deflexa*, *M. mollis* y *M. polycarpa*. Los autores describieron la morfología de mega- y microsporas, así como algunas características de sus paredes acetoresistentes. Gran parte de este estudio fue dedicado a las características de la capa externa gelatinosa de las esporas, visible al producirse su hidratación.

**Marsileaceae** Mirbel, Lamarck & Mirbel, Histoire Naturelle des Végétaux, Classés par Familles 5: 126, 1803.

Tipo: *Marsilea* Linnaeus, Sp. Pl. 2: 1099, 1753.

**Marsilea** L., Species Plantarum, 2: 1099. 1753.

Especie tipo: *Marsilea quadrifolia* L

*Lemma* Jussieu ex Adanson, Fam. 2: 21. 1763.

*Zaluzianskia* Necker, Hist. & Commentat. Acad. Elect. Sci. Theodor. Palat. 3: 303. 1775, non *Zaluzianskya* F. W. Schmidt, 1793.

Plantas rizomatosas acuáticas o palustres, generalmente formando colonias más o menos densas. Rizomas rastreros, delgados, con ramificaciones en los nudos. Raíces originadas sólo en los nudos en algunas especies y en nudos y entrenudos en otras. Pecíolos largos, erectos o decumbentes, frondes con dos pares de folíolos cuneados, dispuestos en cruz, pulvinados en su base, glabras o pubescentes. En ocasiones con líneas rojizas (hidropoten) en la epidermis abaxial de los folíolos de las frondes flotantes. Venación dicótoma, ocasionalmente anastomosadas formando aréolas elongadas. Frondes fértiles usualmente terrestres, raramente sumergidas. Esporocarpos duros, rectangulares a ovoides, unidos en forma terminal al pedúnculo o lateralmente, formando un rafe. A menudo terminan en un diente romo. Soros encerrados en el esporocarpo, unidos a un soróforo gelatinoso, dispuestos en dos hileras, con microsporangios en los márgenes del soro y megasporangios de posición central. Microsporas 16 - 64 por esporangio, triletas,

esferoidales. Megasporas, una por megasporangio, ovoides, con una prolongación proximal en forma de papila. Descripción adaptada de Johnson (1986) y Alonso Paz & Bassagoda (2002).

***Pilularia* L.**, Species Plantarum, 2: 1100. 1753.

Especie tipo: *Pilularia globulifera* L.

Plantas acuáticas o palustres, rizomatosas, con frondes filiformes. Esporocarpos axilares, esferoidales, con 2 - 4 lóculos dispuestos longitudinalmente. Cada lóculo contiene un soro con forma curvada, con megasporangios en su base y microsporangios en el ápice. Descripción adaptada de Tryon & Tryon (1982).

***Regnellidium* Lindman**, Arkiv för Botanik 3 (6): 2. 1904.

Especie tipo: *Regnellidium diphyllum* Lindman

Planta acuática o palustre, con rizomas rastreros o sumergidos. Frondes con dos folíolos opuestos, verde claro, coriáceos, subreniformes, cara adaxial glabra y abaxial pilosa. Venación dicotómica, circundada por una nervadura marginal. Pecíolos largos, pulvinados. Plantas provistas de látex. Esporocarpos duros, solitarios, ovoides, con el pedúnculo inserto a lo largo de uno de sus lados, glabro cuando maduro. Soros encerrados en el esporocarpo, en número de 12. Microsporas numerosas (usualmente 64), triletas, esferoidales a ovoides, con una prolongación proximal en forma de papila. Megasporas, una por esporangio, esferoidales a ovoides, con una prolongación proximal en forma de papila. Descripción adaptada de Alonso Paz & Bassagoda (2002).



### 3. 3. 2. *Marsilea ancylopoda*

---

***Marsilea ancylopoda* A. Braun**, Monatsber. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1863: 434. 1864.

Tipo: Guayaquil, Ecuador. *Jameson 394*. (G, isotipos: BM, G, K)

*Marsilea concinna* Baker, J. Bot. 24: 279. 1866.

*Marsilea ernestii* A. Braun, Monatsber. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1870: 746. 1871.

*Marsilea berteroi* A. Braun Monatsber. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1870: 747. 1871.

*Marsilea mexicana* A. Braun Monatsber. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1870: 747. 1871.

*Zaluzianskia ancylopoda* (A. Braun) Kuntze, Rev. Gen. Pl. 2: 823. 1891.

*Zaluzianskia berteroi* (A. Braun) Kuntze, Rev. Gen. Pl. 2: 823. 1891.

*Zaluzianskia ernestii* (A. Braun) Kuntze, Rev. Gen. Pl. 2: 823. 1891.

*Zaluzianskia mexicana* (A. Braun) Kuntze, Rev. Gen. Pl. 2: 823. 1891.

*Zaluzianskia concinna* (Baker) Kuntze, Rev. Gen. Pl. 2: 823. 1891.

*Marsilea hickenii* Herter, Anales Mus. Nac. Montevideo 2 (1): 379. 1952.

**Megasporas** (Lám. 19; lám. 20; lám. 21, figs. A – E)

Son de 425 - 500  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y de 220 - 325  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial; circulares en vista polar y elipsoidales en vista ecuatorial. (Lám. 19, fig. A; lám. 21, fig. A).

En el polo proximal se observa una papila con forma de domo, ancha y roma (Lám. 19, figs. A, C; lám. 21, fig. A). Esta papila es de 20 - 55  $\mu\text{m}$  de altura y de 75 - 80  $\mu\text{m}$  de diámetro basal.

La superficie de la megaspora presenta elementos granulares que forman un retículo bajo, poco marcado (Lám. 19, fig. B).

*Esporodermis*: (Lám. 19, figs. C, D; lám. 20, figs. A, B; lám. 21, figs. C - E).

Exosporio: es de 1.1 – 1.6  $\mu\text{m}$  de espesor, uniforme en toda la megaspora. Al MEB, en sección, es de aspecto compacto (Lám. 20, figs. A, B).

Episporio: es de 17.9 - 20  $\mu\text{m}$  de espesor, uniforme en la mayor parte de la megaspora y se adelgaza en el área abertural (Lám. 19, figs. A, C; lám. 21, fig. A). En sección, el episporio posee tres capas (Lám. 19, fig. D; lám. 20, figs. A, B; lám. 21, fig. D). La capa interna es de 0.9 – 1.9  $\mu\text{m}$  de espesor, compuesta por cordones delgados, de sección circular, dispuestos en forma compacta, tangenciales con respecto a la superficie de la espora (Lám. 20, fig. B).

La capa media del episporio es la de mayor grosor, de 16.6 – 18.5  $\mu\text{m}$  de espesor, con estructura lacunosa. Está compuesta por cordones semejantes a los de la capa interna, dispuestos en diferentes direcciones, unidos en forma más o menos densa formando placas o tabiques. Los tabiques son alargados en sentido radial y determinan espacios de forma tubular o prismática, de 2 – 3.1  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 19, fig. D; lám. 20, figs. A, B). Los cordones al fusionarse parcialmente dejan interrupciones de diferentes diámetros que interconectan los tabiques y los grandes espacios en esta pared. La capa externa es de 50 – 150 nm de espesor, con perforaciones. Al MEB se observa como una delgada lámina (Lám. 19, fig. D; lám. 20, fig. A; lám. 21, fig. D).

**Microsporas** (Lám. 21, figs. F – I; lám. 22; lám. 31, figs. A, B)

Son triletes, esferoidales, de 34 - 42  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 21, figs. F, G; lám. 31, figs. A, B). Cada lesura es de 6 - 9  $\mu\text{m}$  de longitud, de brazos rectos o algo sinuosos. (Lám. 21, figs. F, H). La superficie es verrucosa a rugulada (Lám. 21, figs. H, I). Algunos de los elementos que componen la ornamentación se fusionan lateralmente. En general la ornamentación es más marcada en la cara distal.

*Esporodermis*: (Lám. 22)

Exosporio: es de 0.5 – 0.9  $\mu\text{m}$  de espesor. Observado con MET se evidencian cavidades en su parte más profunda y está atravesado por canales en todo su espesor (Lám. 22, figs. A, B).

Episporio: está compuesto por dos capas (Lám. 22, figs. A – C).

La capa interna es una lámina de 100 nm de espesor, plegada. Los pliegues determinan proyecciones huecas, alargadas en sentido radial, de 3 – 3.6  $\mu\text{m}$  de altura, con extremos distales redondeados. Esta capa, observada al MET, posee en sección una parte central poco

contrastada y superficies interna y externa fuertemente osmiofilicas. Entre los pliegues, y en los espacios entre el episporio y exosporio se observa una delicada red de fibrillas.

La capa externa es de 10 nm de espesor. Al MET se observa que es lamelar, está integrada por una serie de membranas osmiofilicas superpuestas, con depósitos de material electrodenso de tamaño variable.

Observaciones: En uno de los ejemplares estudiados (*Burkart* 8020) se obtuvieron megasporas de dos esporocarpos diferentes, ambos maduros. En uno de ellos (esporocarpo I, lám. 21, fig. A) las megasporas presentan el aspecto típico observado en el resto de los ejemplares de esta especie. Las megasporas son de forma elipsoidal, en sección la pared es de grosor uniforme, excepto en el área de la papila, donde se adelgaza. En el otro esporocarpo (esporocarpo II, lám. 21, figs. B - E), las megasporas son de forma ovoide y la papila es cónica. El episporio presenta distinto espesor según el área de la espora, es mayor a ambos lados de la papila proximal. En el área proximal el episporio está constituido por laminaciones que determinan espacios alargados radialmente (Lám. 21, fig. C). El episporio en el área distal está constituido por tabiques que determinan alvéolos de extremos distales convexos (Lám. 21, fig. D). Las unidades estructurales del episporio (cordones) son de mayor diámetro que en los otros ejemplares analizados. Estos cordones están unidos más laxamente, dejando grandes espacios. La presencia de sustancias oleosas enmascara la estructura del episporio hacia la superficie.

### **Distribución**

La especie se encuentra desde Florida y México, América Central y del Sur, hasta Argentina. Su límite austral se encuentra en la provincia de Chubut (Argentina).

De acuerdo al material de herbario examinado se puede confirmar la presencia de esta especie en las provincias de Entre Ríos (*Burkart* 24702 SI; *Spegazzini* 20889 BAB) y Jujuy (*Cabrera et al.* 26139 LP) y hay un ejemplar colectado en la provincia de La Pampa (*Troiani* 9125, SRFA) (no visto).

En el Cono Sur se ha citado la presencia de esta especie en las siguientes regiones: (Figura VIII).

**Argentina:** provincias de Jujuy, Salta, Formosa, Chaco, Corrientes, Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos, San Luis, Mendoza, Buenos Aires, La Pampa, Río Negro, Chubut.

**Bolivia:** departamento de Cochabamba

**Brasil:** estado de Rio Grande do Sul

**Paraguay:** departamentos de Chaco Paraguayo, Concepción, Central

**Uruguay:** departamentos de Artigas, Salto, Tacuarembó, Paysandú, Cerro Largo, Soriano, Rocha, Colonia, San José, Canelones, Montevideo.

***Material estudiado:***

**ARGENTINA:** Buenos Aires, La Plata, 10/1917, *s.n.* 17791 (LP). Roque Pérez, 24/04/1958, *s.n.* 5898 (BAB). S.l., s.f., Cabrera 10015 (SI). La Libertad, s.f., *Capurro* 37986 (BA). Camino a Punta Indio, 10/1936, *Dawson* 327 (LP). San Miguel del Monte, 1950, *Guarrera* 29298 (BA). La Plata, 26/08/1906, *Pastore* 100 (SI). Junín, 20/09/1982, *Tellería* 50 (LP). Mar del Plata, 15/11/1930, *Hicken* 27548 (SI). **Capital Federal**, 11/1930, *Burkart* 3345 (SI). 05/1895, *Spegazzini* 17794 (LP). Boca del Riachuelo, 10/1880, *Spegazzini* 17795 (LP). Lag. de la Chacarita, 20/11/1906, *Renaco* *s.n.*° (SI). **Córdoba**, S.l., 06/11/1952, *Mazzuconi* 237 (BAB). Cintra, 12/03/1966, *Partridge* *s.n.*° (BA). **Corrientes**, Yapeyú, 11/11/1936, *Burkart* 8020 (SI). Dto. Mburucuyá, Ea. Santa Teresa, 15/06/1951, *Pedersen* 1109 (SI). Empedrado, La Yela, 11/8/1971, *Pedersen* 9823 (LP). **Chaco**, Fontana, 08/1932, *Meyer* 24741 (SI). Resistencia, 08/09/1976, *Volkheimer* *s.n.*° (BA). Colonia Benítez, 11/09/1950, *Diem* 1604 (BAB). Colonia Benítez, 09/1930, *Schultz* 64 (SI). **Chubut**, Península de Valdés, 25/10/1977, *Bertiller e Irisarri* 821 ½. **Entre Ríos**, S.l., s.f., *Burkart* 24702 (SI). **Formosa**, Ing. Juárez, 10/01/1957, *Burkart* 20188 (SI). **Jujuy**, Dto. Capital, La Almona, 19/04/1975, *Cabrera et al.* 26139 (LP). **Mendoza**, Payún Matru 30/01/1941, *Castellanos* *s.n.*° (BA). **Río Negro**, Dto. Alsina, R.N. 250, Co. Campanín, 09/11/1988, *Correa et al.* 9580 (BAB). Gral. Conesa, 01/1916, *Scak* 1 (LP). **Salta**, Dto. Anta, Parque Nacional El Rey, 17/04/1987, *Palací* 950 (LP). **San Luis**, Pancanta, 25/11/1919 *Pastore* 416 (BA). **Santa Fe**, Lag. de la Gallareta, 05/01/1937, *Castellanos* *s.n.*° (BA). Helvecia, 12/03/1965, *Tur* 696 (LP).

**BRASIL:** Rio Grande do Sul, San Gabriel, s.f., *Rambo* 1283 (PACA).

**PARAGUAY:** **Central**, Asunción, 02/03/1908, *Hicken 3* (SI). Asunción, Parque del Jardín Botánico, 08/1938, *Rojas 1632* (SI). Asunción, Puerto Sajonia 10/1919, *C. Spegazzini s.n°* (LP).

**URUGUAY:** **Montevideo**, 1935, *Herter 6552* (SI).

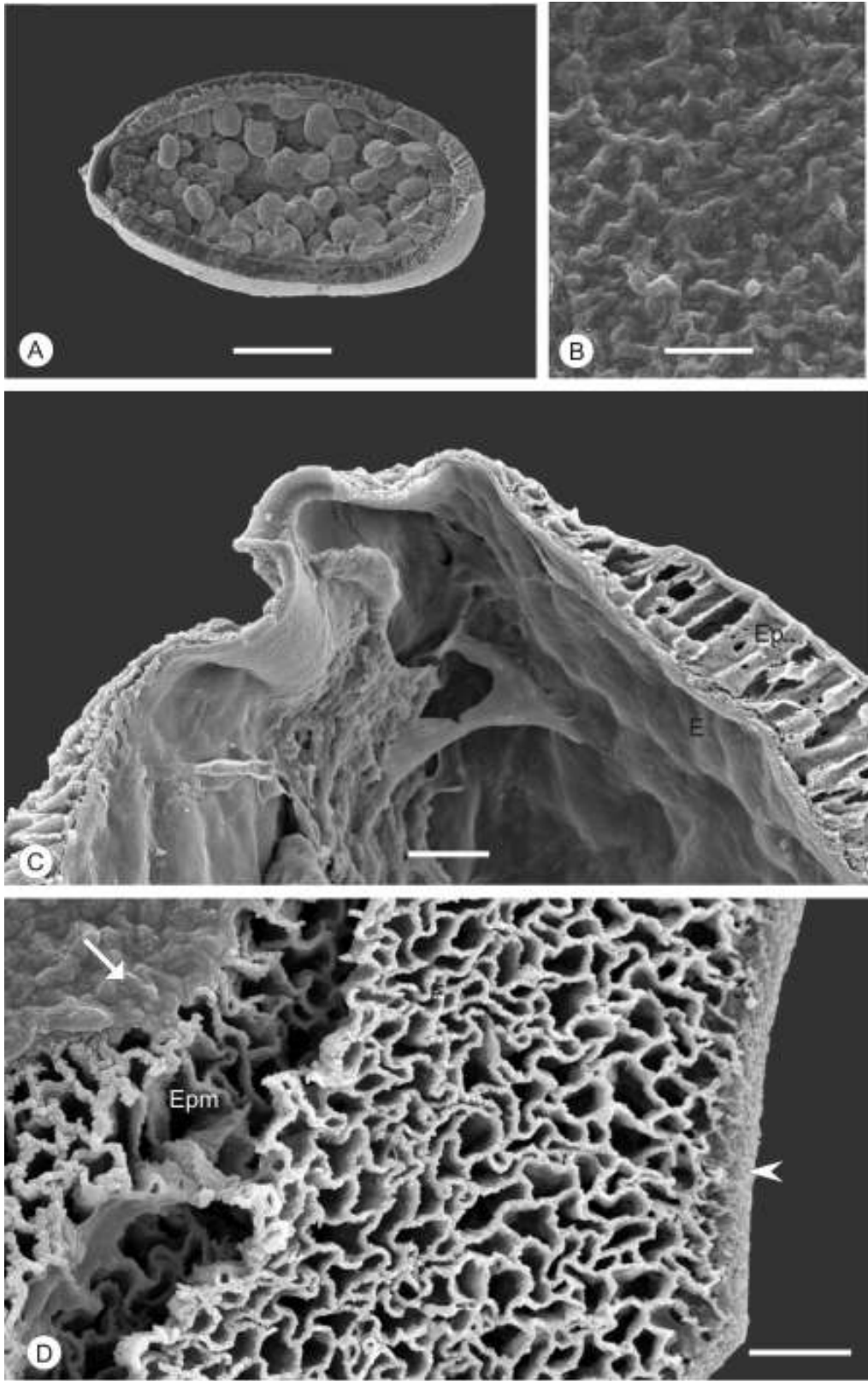


LÁMINA 19. Megasporas de *Marsilea ancylopoda* A. Braun observadas con MEB.  
Ejemplar: *Palaci 950* (LP).

- A- Megaspóra en sección, en vista ecuatorial. Hacia la parte izquierda de la imagen se observa la papila en el polo proximal. El episporio se adelgaza en el área de la papila. Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- B- Detalle de la superficie reticulada. Escala: 5  $\mu\text{m}$ .
- C- Detalle del área de la papila. Se observan el exosporio (E) y el episporio (Ep), que en esta área es más delgado que en el resto de la megaspóra. Escala: 10  $\mu\text{m}$ .
- D- Sección tangencial de pared. Hacia la izquierda de la imagen se observa la superficie reticulada, con la capa externa lamelar, delgada (flecha). Hacia el centro y derecha de la imagen, la capa externa está ausente y se observan los espacios tubulares internos (Epm). En el extremo derecho puede verse el episporio interno (punta de flecha), con cordones dispuestos desordenadamente, tangenciales a la superficie de la megaspóra. Escala: 5  $\mu\text{m}$

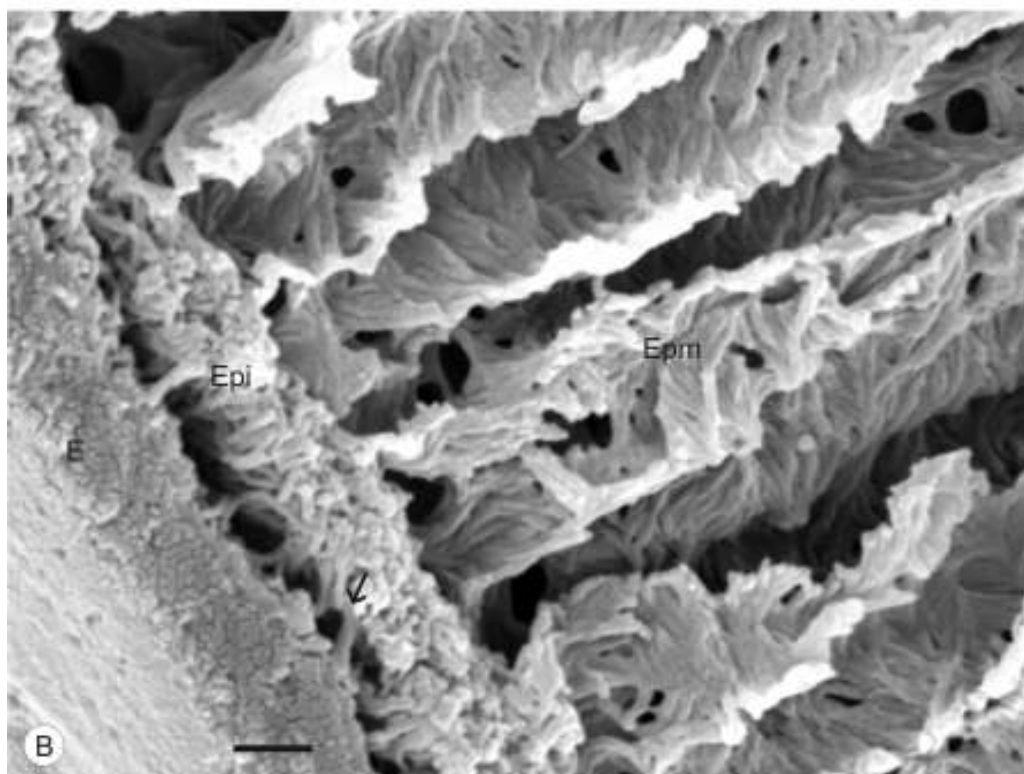
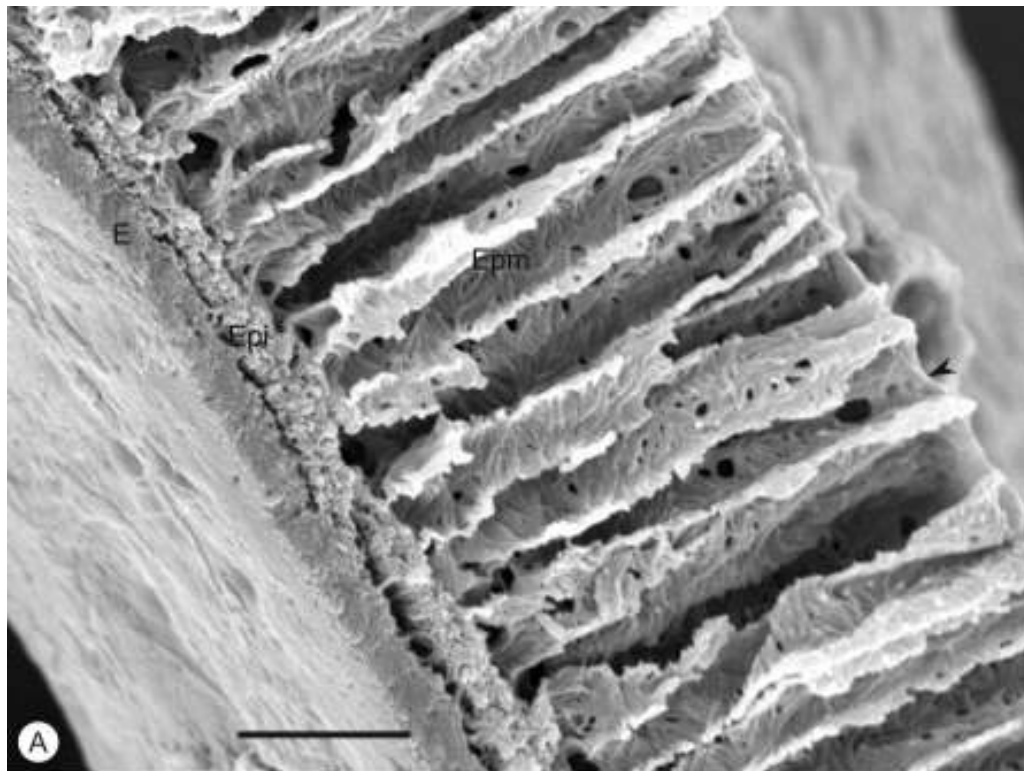




LÁMINA 20. Megasporas de *Marsilea ancylopoda* A. Braun observadas con MEB.  
Ejemplar: *Mazzuconi 237* (BAB)

- A- Sección de pared. Se observan el exosporio (E) y las capas interna (Epi) y media del episporio (Epm), conformadas por cordones. La capa media del episporio presenta espacios alargados en dirección radial. La capa más externa del episporio (punta de flecha) es lamelar y continua y se evidencia sobre los espacios de la capa media. Escala: 5  $\mu\text{m}$ .
- B- Detalle de la sección de pared de la fig. A. Se observan el exosporio (E) y el episporio interno (Epi) con cordones, algunos de ellos estirados (flecha), en conexión con la superficie del exosporio. El episporio medio (Epm) está conformado por cordones parcialmente fusionados, dejando entre sí espacios de diferentes diámetros. Escala: 1  $\mu\text{m}$ .

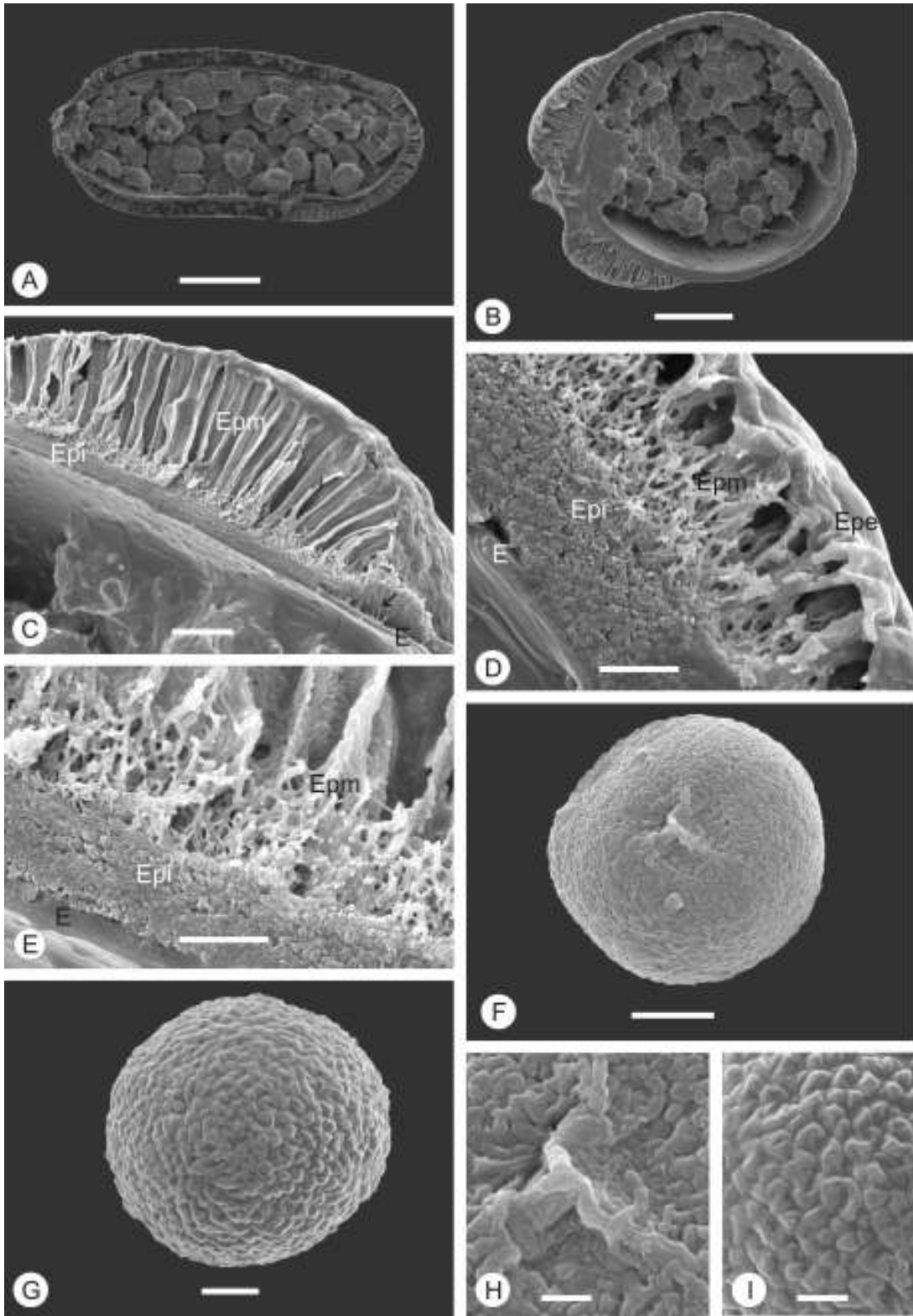


Lámina 21

LÁMINA 21. Megasporas y microsporas de *Marsilea ancylopoda* A. Braun observadas con MEB. Ejemplar: *Burkart 8020* (LP).

- A- Megaspóra en sección, proveniente del esporocarpo I, *Burkart 8020* (LP), en vista ecuatorial. La megaspóra es elipsoidal, con una papila proximal roma. La pared es de grosor uniforme excepto en la papila, donde es más delgada. Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- B- Megaspóra en sección, proveniente del esporocarpo II, *Burkart 8020* (LP), en vista ecuatorial. La megaspóra es ovoide, con una papila cónica. La pared posee diferente espesor en las distintas áreas de la megaspóra, es de grosor uniforme en las áreas distal y ecuatorial y es mayor hacia el área proximal. Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- C- Sección de pared de la megaspóra de la fig. B, en la zona proximal. Se observan el exosporio (E) y el episporio, con las capas interna (Epi) y media (Epm). La capa media está formada por cordones en su parte basal y laminaciones que determinan espacios alargados radialmente hacia el exterior. La flecha indica elementos del episporio interno estirados y adheridos al exosporio. Escala: 20  $\mu\text{m}$ .
- D- Sección de pared de la megaspóra de la fig. B, detalle de la zona distal. Se observan el exosporio (E) y el episporio interno (Epi), integrado por cordones; los cordones seccionados dan un aspecto granular a esta capa. El episporio medio (Epm) presenta cordones gruesos hacia la parte inferior y laminaciones que determinan espacios radiales, de menor altura que las observadas en el área proximal. El episporio externo (Epe) es una capa delgada, continua. Escala: 5  $\mu\text{m}$ .
- E- Sección de pared, detalle de fig. C. Se observan el exosporio (E) compacto y el episporio interno (Epi) y medio (Epm). La parte inferior del episporio medio posee cordones gruesos unidos laxamente. Escala: 5  $\mu\text{m}$ .
- F- Microspóra en vista proximal. Escala: 10  $\mu\text{m}$ .
- G- Microspóra en vista distal. Escala: 10  $\mu\text{m}$ .
- H- Detalle de la microspóra de la fig. F. Se observan las lesuras y la superficie rugulada a verrucosa. Escala: 2  $\mu\text{m}$ .
- I- Detalle de la microspóra de la fig. G. La superficie es rugulada a verrucosa. Escala: 5  $\mu\text{m}$ .

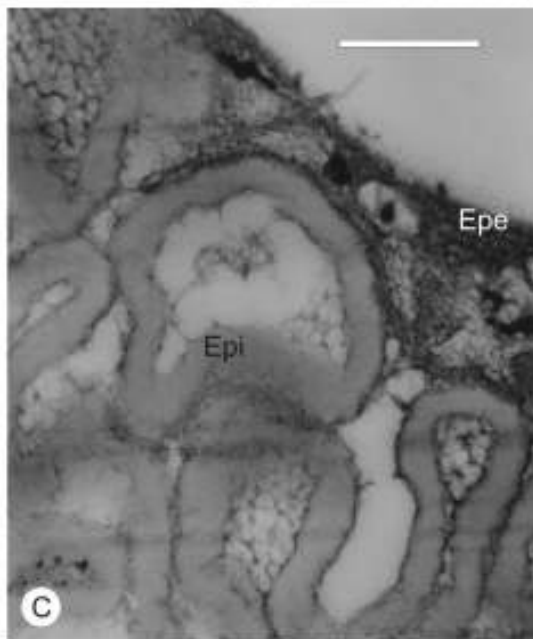
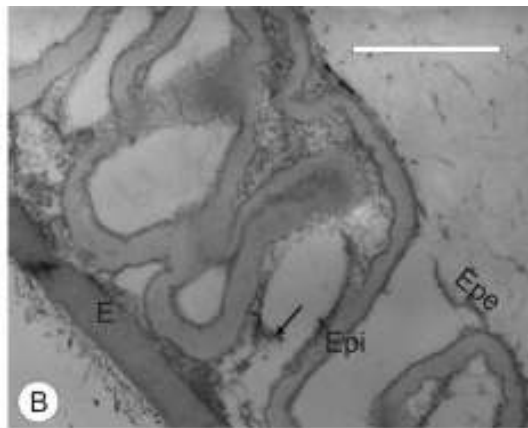
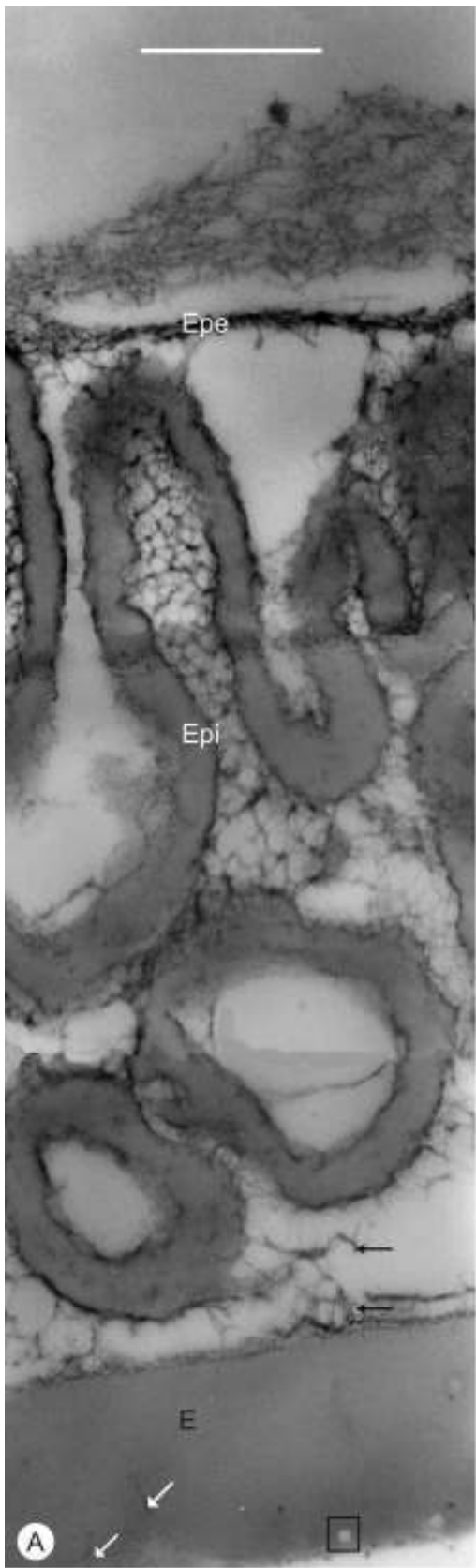


Lámina 22

LÁMINA 22. Microsporas de *Marsilea ancylopoda* A. Braun observadas con MET.  
Ejemplar: *Palaci 950 (LP)*

- A- Sección de pared. Se observan el exosporio (E), con canales (flechas blancas) y cavidades (recuadro) en todo su espesor. Por encima del exosporio se encuentra la capa interna del episporio (Epi), conformada por una lámina con márgenes electrodensos y una parte central menos contrastada, plegada. Sobre las superficies de esta lámina se observa una red de fibrillas delicadas. En algunos sectores la red de fibras se encuentra parcialmente desprendida (flechas). La capa externa del episporio (Epe) es delgada, formada por delicadas membranas osmiofílicas. Escala: 0.5  $\mu\text{m}$ .
- B- Sección de pared, se observan el exosporio (E) y el episporio interno (Epi), plegado. Entre el exosporio y episporio, y entre los pliegues del episporio interno se observa una red de fibrillas, más densa en algunos sectores y desprendida en otros (flecha). Hacia la superficie se observa el episporio externo (Epe), conformado por membranas superpuestas, que sigue el contorno de los pliegues del episporio interno y en un sector está interrumpido. Escala: 0.5  $\mu\text{m}$ .
- C- Parte externa de la pared, con episporio interno (Epi) y externo (Epe). El episporio externo presenta un espesor no uniforme y está compuesto por membranas osmiofílicas. Escala: 0.5 $\mu\text{m}$ .

### 3. 3. 3. *Marsilea crotophora*

---

***Marsilea crotophora* D. M. Johnson**, Syst. Bot. Monogr. 11. 1986.

Tipo: Brasil, Mato Grosso do Sul, Corumbá. *Hatschbach & Sherer 30470*. (US, isotipos: LP, C, M, MICH, NY, UC)

#### **Megasporas** (Lám. 23; lám. 24)

Son de 400 – 493.3  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 269.6 – 366.7  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, circulares en vista polar y elipsoidales en vista ecuatorial (Lám. 23, figs. A, E). En el polo proximal se observa una estructura en forma de papila, cónica, de 43.5 – 80  $\mu\text{m}$  de altura y 106 – 166.7  $\mu\text{m}$  de diámetro en su base, con un anillo de 16.9  $\mu\text{m}$  de espesor, que la circunda hacia la mitad de su altura (Lám. 23, figs. A, B). La superficie de la megaspora es reticulada, con muros de escasa altura constituidos por gránulos (Lám. 23, figs. C, D).

*Esporodermis*: (Lám. 23, fig. E; lám. 24, figs. A, B).

La esporodermis consta del exosporio, delgado y el episporio, de gran espesor, que constituye la mayor parte de la pared de la espora.

Exosporio: en sección es de 0.6 – 1.3  $\mu\text{m}$  de espesor, observado al MEB es de aspecto homogéneo y compacto (Lám. 24, fig. A).

Episporio: es de espesor variable, más grueso en el tercio proximal de la megaspora. Se adelgaza en el polo proximal hasta 1.4  $\mu\text{m}$  y se separa del exosporio, formando la estructura en forma de papila (Lám. 23, fig. E; lám. 24, fig. B).

En las áreas distal y ecuatorial el episporio es de 22.6 - 29.5  $\mu\text{m}$  de espesor y está integrado por tres capas (Lám. 24, fig. A). La capa interna, de 2.4 – 4.5  $\mu\text{m}$  de espesor, está constituida por cordones dispuestos en forma compacta, tangenciales con respecto a la superficie del exosporio.

La capa media de episporio es de 20.2 – 25  $\mu\text{m}$  de espesor. Está formada por cordones semejantes a los de la capa interna, dispuestos en diferentes direcciones, anastomosados desordenadamente formando tabiques. Estos tabiques a su vez determinan espacios alargados en sentido radial, de 4.6 – 5.9  $\mu\text{m}$  de diámetro, tubulares o prismáticos. Los

extremos distales de los espacios prismáticos de esta capa forman el patrón reticulado que se observa en superficie (Lám. 23, fig. C).

La capa más externa es delgada, de 400 – 700 nm de espesor, continua (Lám. 23, fig. C).

### **Microsporas (Lám. 25)**

Son triletes, esferoidales, de 33 - 56.5  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 25, figs. A, C). Cada lesura mide 6 - 12.5  $\mu\text{m}$  de longitud. La superficie es variable en tipo y altura de los elementos que la conforman. Según las esporas, estos elementos pueden ser clavos (Lám. 25, figs. A, B), báculo o verrugas (Lám. 25, figs. C, D) y hay además escasas perforaciones de distribución irregular.

*Esporodermis:* (Lám. 25, figs. E, F)

Exosporio: En las fracturas de pared observadas al MEB el exosporio se encuentra retraído, separado del episporio (Lám. 25, fig. E). La superficie del exosporio es rugulada, con algunas perforaciones (Lám. 25, fig. F).

Episporio: En sección, observado al MEB, está constituido por una lámina delgada de 200 nm de espesor, plegada formando proyecciones radiales, de 2.6 - 3.8  $\mu\text{m}$  de altura, con extremos dilatados (Lám. 25, figs. E, F). Por encima se encuentra una capa lamelar, delgada.

Observaciones: En las microsporas la capa externa lamelar atenúa el relieve de los pliegues subyacentes, con lo que determina una superficie verrucosa. En algunas microsporas, sin embargo, la capa externa se encuentra desgarrada y los extremos de las proyecciones del episporio constituyen directamente la superficie de la microspora, observándose entonces como clavos (Lám. 25, figs. B).

### **Distribución**

La especie se extiende desde México, América Central, Venezuela, el oeste de Brasil, Bolivia y Paraguay.

En el Cono Sur se ha citado la presencia de esta especie en las siguientes regiones (Fig. VIII):

**Bolivia:** departamento de Beni, Santa Cruz

**Brasil:** estado de Paraná

**Paraguay:** departamento Central

***Material estudiado:***

**BOLIVIA: Santa Cruz,** Prov. Ñuflo de Chavez, 1 km al E de San Ramón, 16° 38' 15" S, 62° 27' W. 07/07/1991, *Arroyo y Menacho 36* (LP).

**BRASIL: Mato Grosso,** Corumbá, 14/10/1972, *Hatschbach & Scherer 30470* (LP), (isotipo).

**PARAGUAY: Central,** Asunción, 03/1940, *Rojas 8828* (SI).



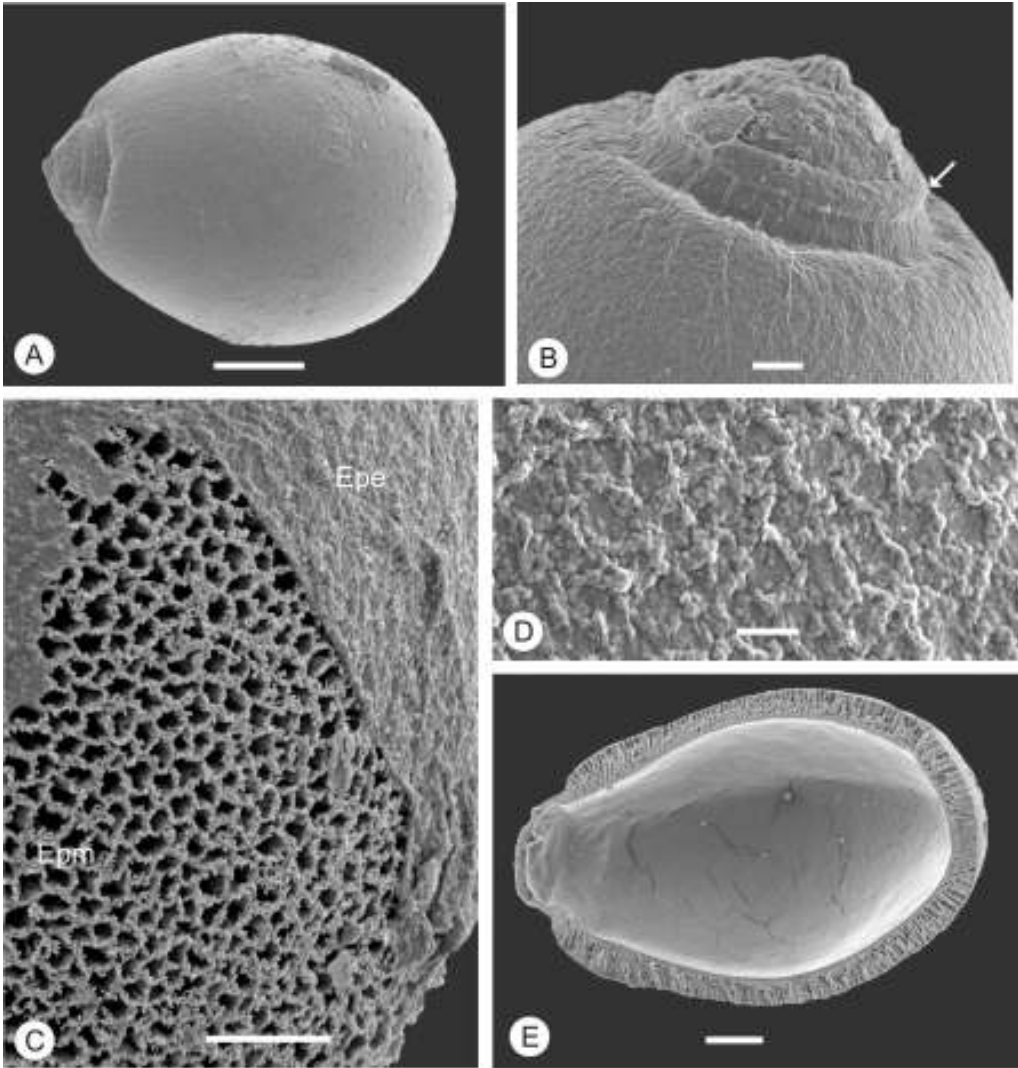


LÁMINA 23. Megasporas de *Marsilea crotophora* D.M. Johnson observadas con MEB

- A- Megaspora en vista ecuatorial. Hacia la izquierda de la imagen se observa la papila.  
Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Arroyo y Menacho 36*
- B- Detalle de la fig. A. La papila es cónica, con un anillo engrosado hacia la mitad de su altura (flecha). Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Arroyo y Menacho 36*
- C- Vista superficial de una megaspora, se observa la parte externa del episporio (Epe), lamelar, que conforma la superficie. En el sector inferior de la imagen falta el episporio externo y queda expuesto el episporio medio (Epm), del que se observan los extremos de los tabiques. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Rojas 8828*
- D- Detalle de la superficie, con un retículo poco marcado, con elementos granulares.  
Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Arroyo y Menacho 36*
- E- Megaspora seccionada, en vista ecuatorial. La pared posee un espesor uniforme en las áreas distal y ecuatorial y se adelgaza en la papila proximal, observada a la izquierda de la imagen. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Arroyo y Menacho 36*

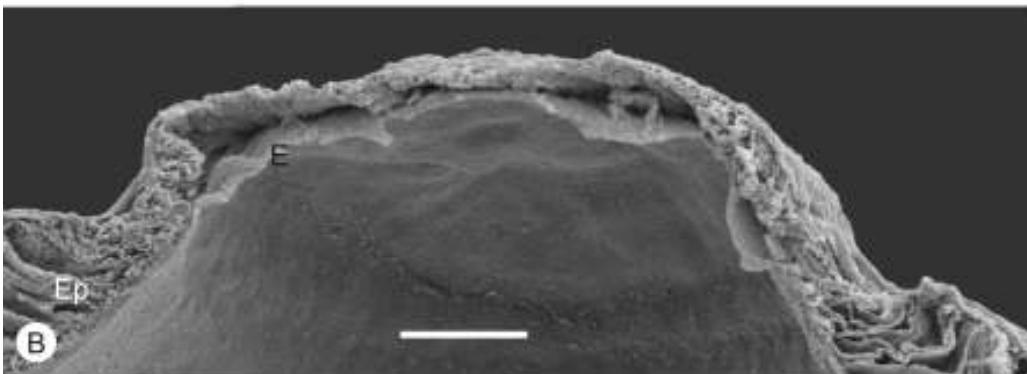
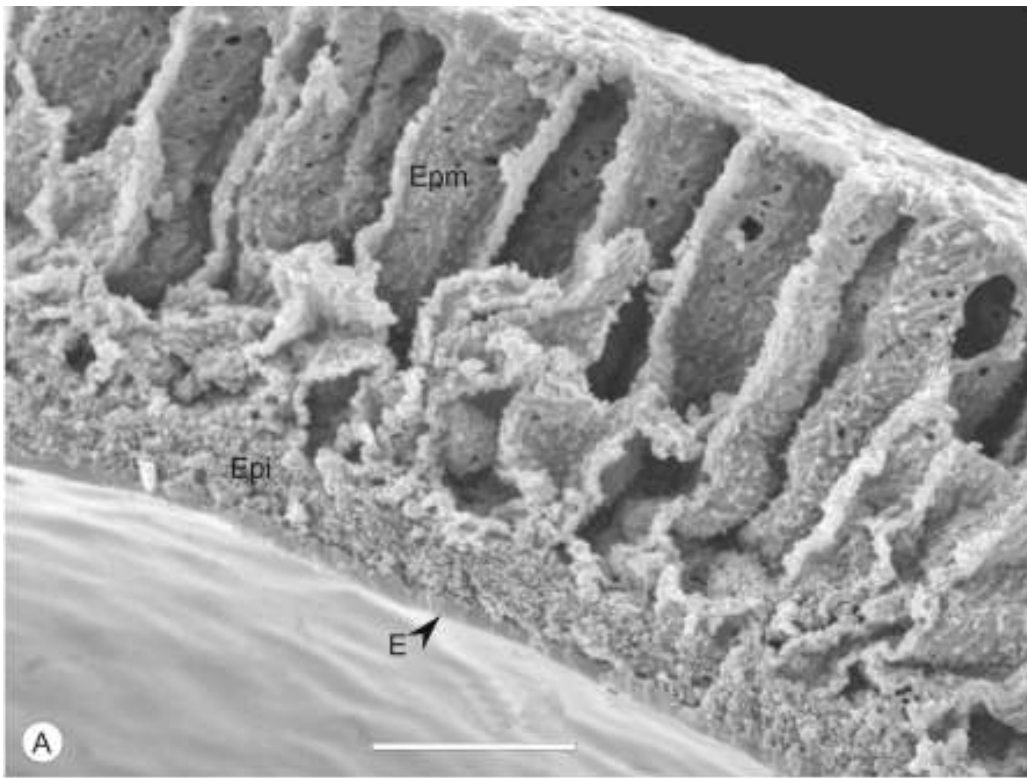


LÁMINA 24. Megasporas de *Marsilea crotophora* D. M. Johnson observadas con MEB

- A- Sección de pared. El exosporio (E, punta de flecha) es compacto, el episporio interno (Epi) está integrado por cordones. En el episporio medio (Epm) los cordones están parcialmente fusionados y forman tabiques que determinan espacios prismáticos, alargados radialmente. En los tabiques, entre los cordones, se observan espacios de diferentes diámetros. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Arroyo y Menacho 36*
- B- Detalle de la megaspora de la Lám. 23, fig. E. Sección de la pared en el área de la papila. El exosporio (E) y el episporio (Ep) se encuentran parcialmente separados. El episporio en la papila es de espesor reducido. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Arroyo y Menacho 36*

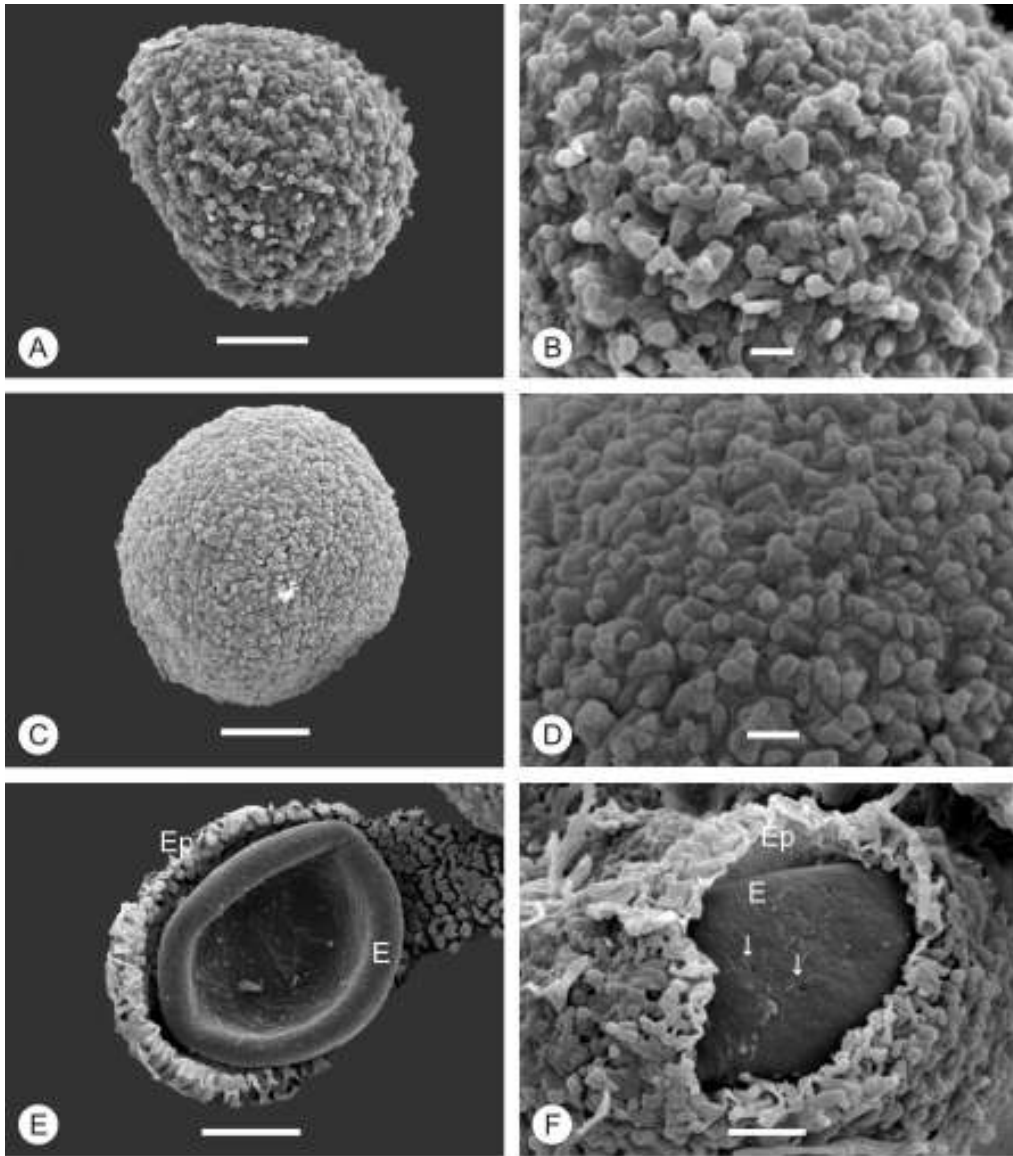


LÁMINA 25. Microsporas de *Marsilea crotophora* D.M. Johnson observadas con MEB

- A- Microspora en vista distal. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Hatschbach & Scherer 30470*
- B- Detalle de la fig. A. La superficie de la microspora está integrada por verrugas, báculo y clavos. Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Hatschbach & Scherer 30470*
- C- Microspora en vista distal. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Arroyo y Menacho 36*
- D- Detalle de la fig. C. La superficie de la microspora es verrucosa. Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Arroyo y Menacho 36*
- E- Microspora con el exosporio (E) colapsado y episporio (Ep) desprendido. El exosporio presenta una superficie rugulada. El episporio está constituido por una lámina delgada, plegada conformando proyecciones. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Hatschbach & Scherer 30470*
- F- Microspora con parte del episporio (Ep) desprendido. Se observa el exosporio (E), con perforaciones en su superficie (flechas). En el episporio se observan las proyecciones huecas, con forma de báculo, clavos o verrugas. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Hatschbach & Scherer 30470*

### 3. 3. 4. *Marsilea deflexa*

---

***Marsilea deflexa* A. Braun**, Monatsber. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1863: 421. 1864.

Tipo: Brasil, Piauí, 1839. *Gardner 2760* (G, isotipos: BM, G, K, P)

*Marsilea striata* Mettenius, Ann. Sci. Nat. Bot., sér. 5, 3: 310. 1865.

*Zaluzianskia deflexa* (A. Braun) Kuntze, Rev. Gen. Pl. 2: 823. 1891.

**Megasporas** (Lám. 26, figs. A – D; lám. 27)

Son de 367 - 514  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 267 - 440  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, circulares en vista polar y elipsoidales en vista ecuatorial (Lám. 26, figs. A, C). En el polo proximal se observa una estructura en forma de papila roma, trapezoidal, de 36 - 64  $\mu\text{m}$  de altura y 116 - 160  $\mu\text{m}$  de diámetro basal, con un anillo en su parte media (Lám. 26, fig. B).

*Esporodermis*: (Lám. 27).

Exosporio: es de 0.6 – 1  $\mu\text{m}$  de espesor. Observado al MEB, en sección, es de aspecto homogéneo, compacto (Lám. 27, fig. C)

Episporio: es de grosor uniforme en las áreas distal y ecuatorial, de 18.5 - 21.6  $\mu\text{m}$  de espesor y se adelgaza en el área de la papila, hasta cerca de 1  $\mu\text{m}$ . (Lám. 27, fig. A).

En las áreas distal y ecuatorial presenta tres capas. La interna es de 1.5 - 3.8  $\mu\text{m}$  de espesor y está constituida por cordones de sección circular dispuestos tangencialmente con respecto a la superficie de la espora (Lám. 27, fig. E).

La capa media es de 15.5 - 20  $\mu\text{m}$  de espesor. Está conformada por cordones semejantes a los de la capa inferior, unidos en forma desordenada conformando tabiques. Estos tabiques determinan espacios alargados radialmente, de 2.5 - 5  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 27, figs. A, B).

La capa externa es delgada, de 300 nm de espesor, continua y cubre los extremos de los espacios radiales de la capa media (Lám. 27, fig. B).

**Microsporas** (Lám. 26, figs. E – I; lám. 28; lám. 31, figs. C, D)

Son triletes, esferoidales, de 36 - 68  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 26, figs. E, F). Las lesuras son de 4 - 20  $\mu\text{m}$  de longitud. La superficie presenta verrugas, pila, clavav o bácula (Lám. 26, figs. F, G, I).

Se observan elementos esferoidales, de 4 – 22  $\mu\text{m}$  de diámetro tanto en la superficie de las microsporas como libres dentro del microsporangio (Lám. 26, figs. E, F; lám. 31, figs. C, D). La superficie de los mismos presenta una ornamentación similar a la de las microsporas, pero con elementos de mayor tamaño (Lám. 26, fig. F). Los elementos esferoidales observados al MO, presentan un contraste semejante al del episporio de las microsporas (Lám. 31, figs. C, D).

*Esporodermis*: (Lám. 26, figs. E, G – I; lám. 28)

Exosporio: La superficie es irregular, escabrada (Lám. 26, fig. G). En sección, es de 500 - 800 nm de espesor. Al MET se observan dos capas (Lám. 28, figs. B - D). La capa interna es muy delgada, más evidente en el área de las lesuras. La capa externa presenta canales de orientación radial en todo su espesor y cavidades. Por debajo de las lesuras se observan gránulos de material con contraste semejante al del exosporio (Lám. 28, fig. C).

Episporio: Está constituido por dos capas. La interna es una lámina delgada, de 100 nm de espesor, plegada (Lám. 26, figs. G – I; lám. 28, fig. 1). Al MEB se observa que los pliegues forman proyecciones huecas, alargadas en sentido radial, es de 1.5 - 4.4  $\mu\text{m}$  de altura, de extremos redondeados. Al MET se observa que entre los pliegues del episporio, y entre éstos y la superficie del exosporio se encuentra una red de fibrillas delgadas (Lám. 28, figs. A, B)

Por encima de los pliegues se encuentra la capa externa delgada, lamelar, que se dispone siguiendo sus contornos (Lám. 26, figs. H, I; lám. 28, fig. A).

En el ejemplar *Fontana 770* se observó con MET que el exosporio y el episporio están unidos en la lesura (Lám. 28, fig. B). Ambas paredes además presentan un contraste semejante.

Observaciones: Megasporas: En el episporio de las megasporas con frecuencia se observan sustancias entre los cordones de la capa media, que dificultan la visualización de las estructuras subyacentes (Lám. 27, fig. C).



Microsporas: En algunos ejemplares la capa más externa de la esporodermis está ausente o se encuentra parcialmente desgarrada, exponiendo los pliegues de la capa interna (Lám. 26, fig. I). En estos casos superficie de la microspora se observa como baculada, clavada o pilada.

En los ejemplares estudiados se han observado dentro de cada microsporangio pares de microsporas con exosporios individuales pero que comparten un mismo episporio.

### **Distribución**

Se la encuentra desde México hasta el noreste de Argentina. En el Cono Sur se ha citado la presencia de esta especie en las siguientes regiones (Figura VIII):

**Argentina:** provincia de Corrientes

**Paraguay:** departamentos de Alto Paraguay, Concepción, Itapúa

### ***Material estudiado:***

Para el estudio de esta especie se incluyó un ejemplar del norte de Sudamérica, ya que sólo pudo obtenerse un único ejemplar perteneciente al área de estudio.

**ARGENTINA:** Corrientes, Dto. Capital, paraje El Perichón, 25/05/1989. *Fontana 770* (CTESN).

**VENEZUELA:** Guárico, Km 239 of San Fernando-Calabozo highway, 36 Km N of Camaguán, s.f., *Johnson 794* (CTES).

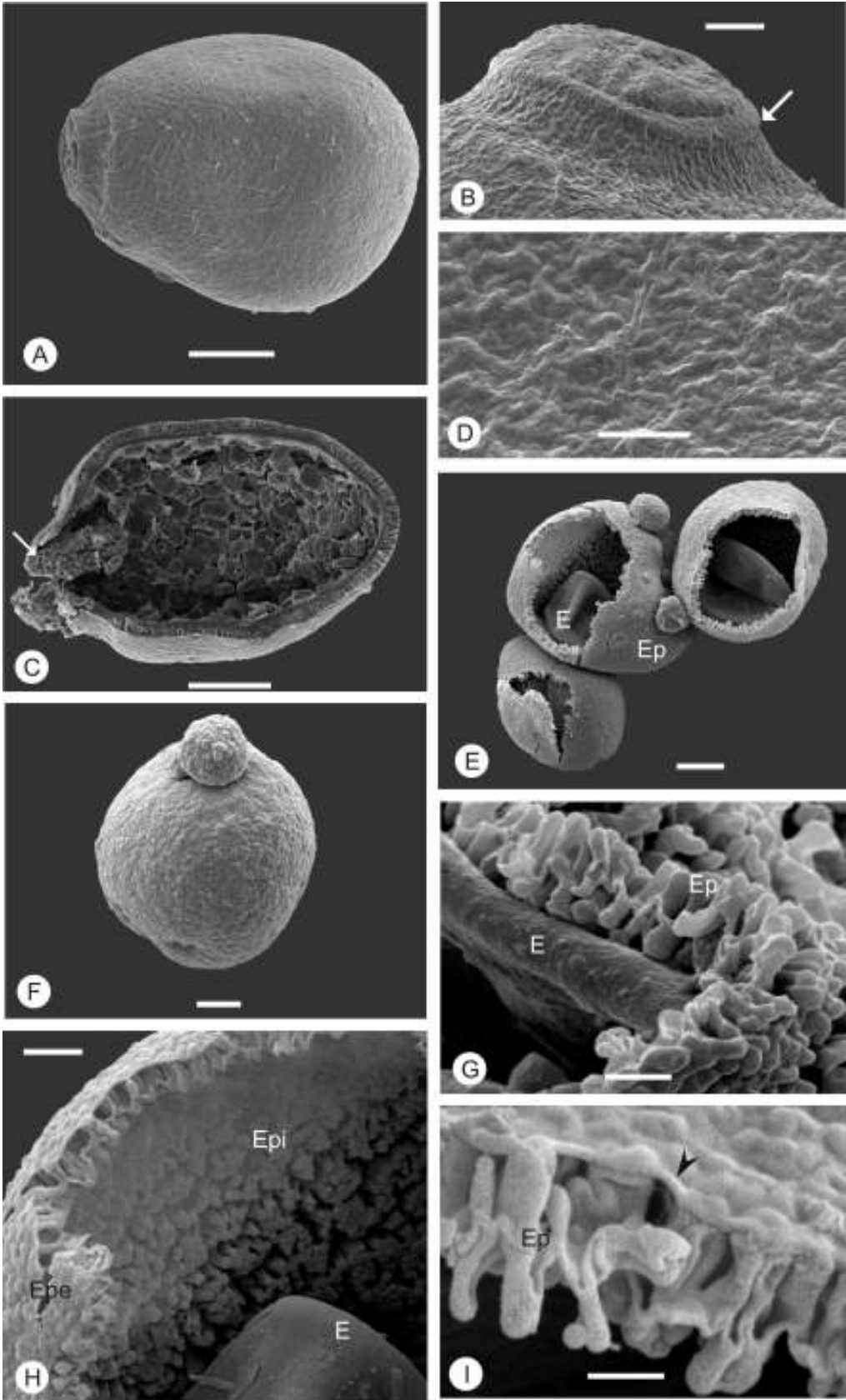


Lámina 26

LÁMINA 26. Megasporas y microsporas de *Marsilea deflexa* A. Braun observadas con MEB

- A- Megaspora en vista ecuatorial, con el polo proximal orientado hacia la izquierda de la imagen, donde se observa la papila. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Fontana 770* (CTESN).
- B- Detalle de la megaspora de la fig. A. Se observa la papila, con un anillo en su parte media (flecha). También se evidencia la superficie de la megaspora, reticulada. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Fontana 770* (CTESN).
- C- Megaspora seccionada, en vista ecuatorial. El espesor del episporio es uniforme en toda la megaspora, excepto en la papila (parcialmente rota), donde se adelgaza (flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Fontana 770* (CTESN).
- D- Detalle de la superficie de la megaspora Escala: 10  $\mu\text{m}$ . Ejemplar: *Fontana 770* (CTESN).
- E- Tres microsporas con el episporio (Ep) fracturado, el exosporio (E) se encuentra colapsado y es parcialmente visible. En la microspora ubicada en el centro se observan cuerpos esferoidales de diferentes tamaños, con una superficie semejante a la de las microsporas. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Johnson 794* (CTES)
- F- Microspora; la superficie es verrucosa. Sobre la microspora se encuentra un cuerpo esferoidal, con ornamentación semejante a la de la microspora, pero con elementos de mayores dimensiones. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Johnson 794* (CTES)
- G- Detalle de una fractura de la pared de una microspora. Se observa el exosporio (E) en superficie, escabrado y la capa plegada que conforma el episporio interno (Ep). Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Fontana 770* (CTESN)
- H- Detalle de la fig. E. Se observan el exosporio de la microspora (E), con superficie escabrada y a la izquierda, el episporio, con la capa interna (Epi), compuesta por una lámina plegada, que forma proyecciones huecas y la capa externa (Epe) delgada. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Johnson 794* (CTES)
- I- Detalle de una fractura del episporio de la misma microspora que en figs. E y H. Se observan la capa externa del episporio (punta de flecha) que cubre los pliegues de la capa interna (Ep). Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Johnson 794* (CTES)

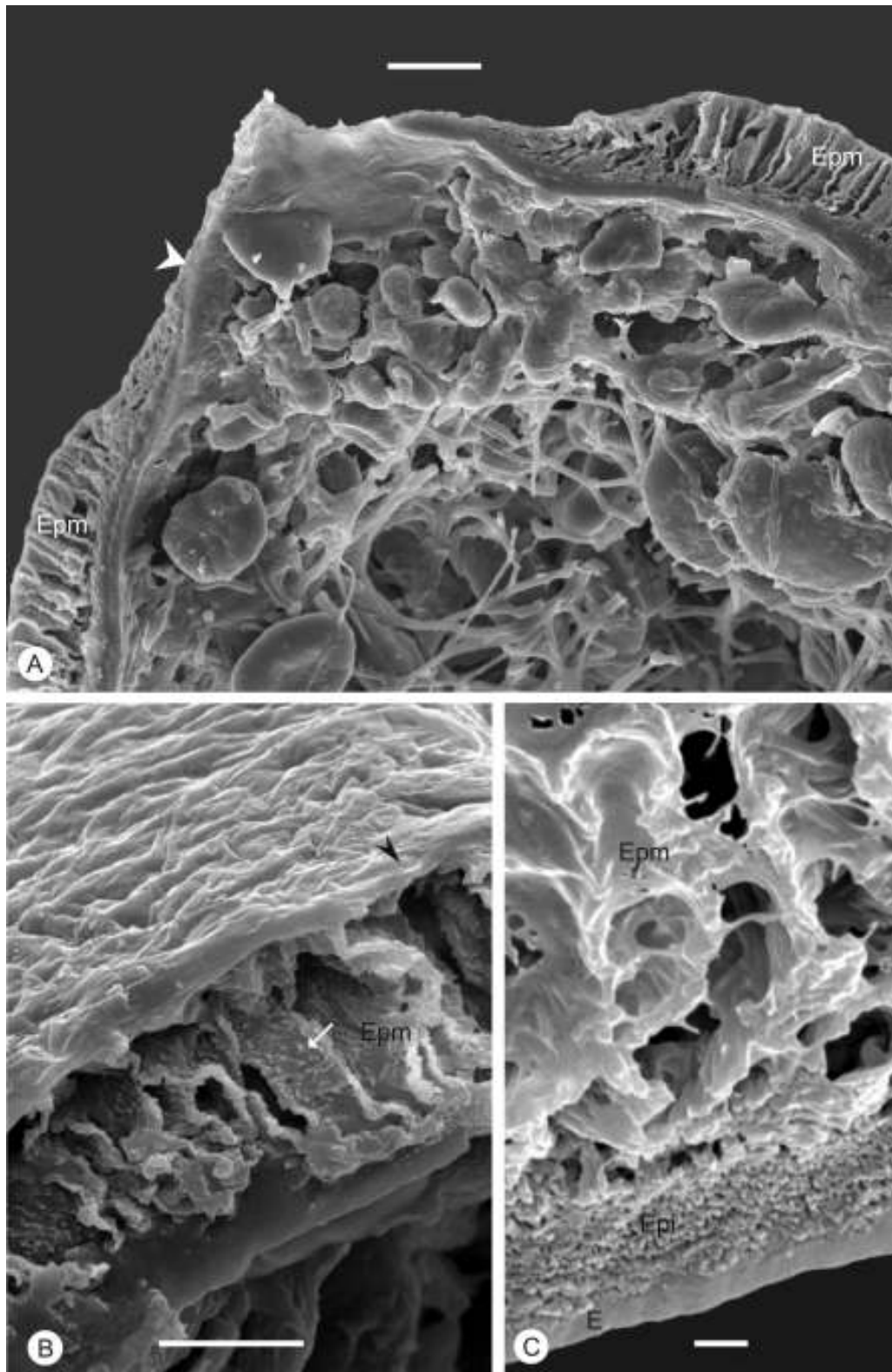


LÁMINA 27. Megasporas de *Marsilea deflexa* A. Braun observadas con MEB

- A- Sección de la megaspora, en el área proximal. Se observa la estructura del episporio medio (Epm), con espacios radiales y el adelgazamiento de esta pared en la zona de la papila (punta de flecha). Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Fontana 770* (CTESN).
- B- Sección de pared. Se evidencia el episporio medio (Epm) con tabiques que determinan espacios alargados, radiales. En los tabiques se observan los cordones como procesos delgados (flecha), parcialmente cubiertos por alguna sustancia. Hacia la superficie se encuentra la parte externa del episporio, una capa delgada continua (punta de flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Johnson 794* (CTES)
- C- Detalle de la parte más interna de la pared. Se observan el exosporio (E) homogéneo, el episporio interno (Epi) conformado por cordones, vistos en sección y el episporio medio (Epm), cubierto por una sustancia que dificulta la visualización de su estructura. Escala: 1  $\mu\text{m}$ . *Fontana 770* (CTESN).

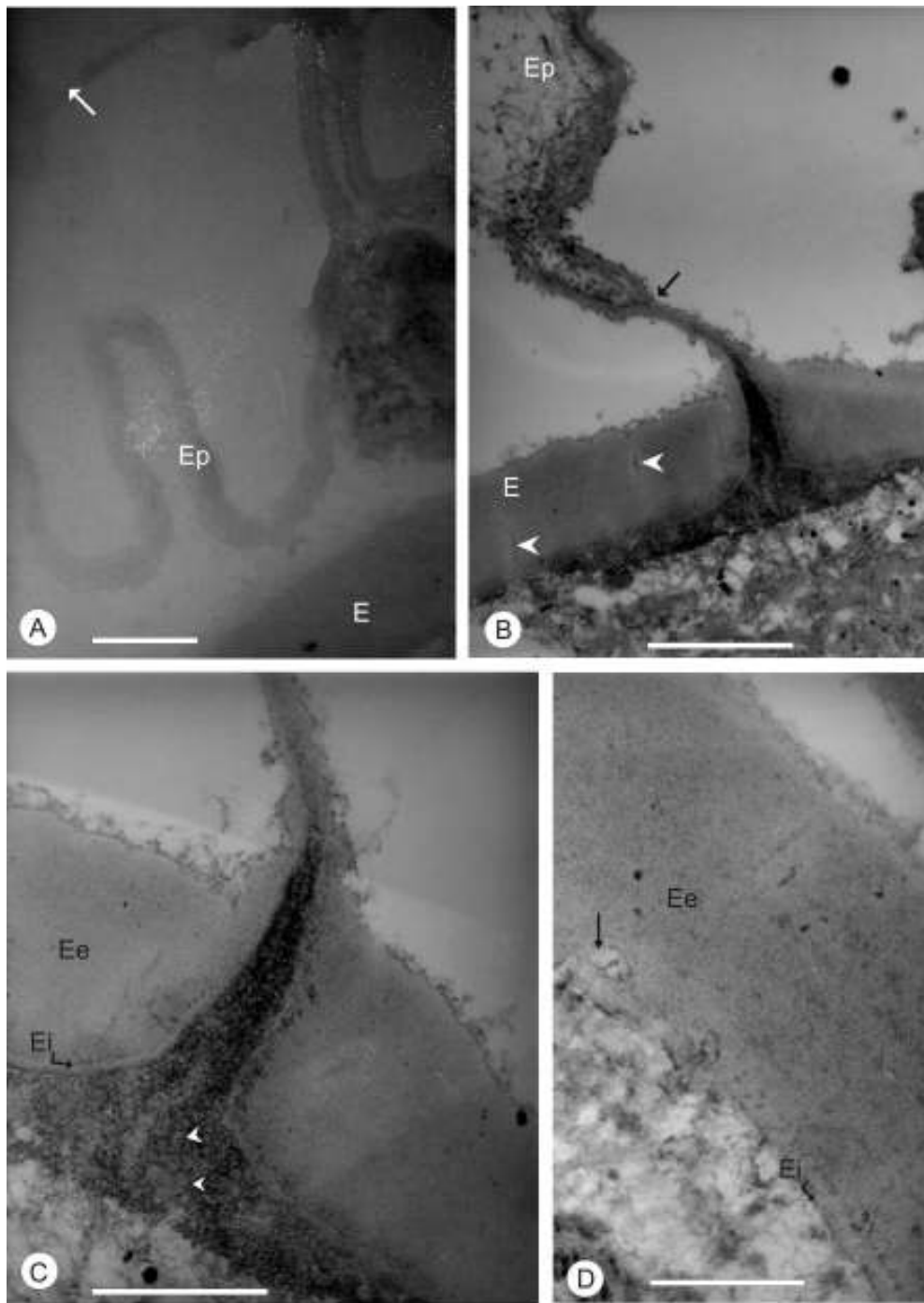


Lámina 28

LÁMINA 28. Microsporas de *Marsilea deflexa* A. Braun observadas con MET. Ejemplar: *Fontana 770 (CTESN)*

- A- Sección de pared. Se observan el exosporio (E) y sobre éste el episporio interno (Epi) conformado por una lámina plegada. Hacia la superficie se encuentra una capa lamelar (flecha), que sigue el contorno de algunos de los pliegues. Escala: 0.5  $\mu\text{m}$
- B- Sección de pared en el área de una lesura. El exosporio (E) tiene canales en todo su espesor (puntas de flecha) y se proyecta en la lesura. El exosporio y el episporio (Ep) se encuentran unidos (flecha) y ambas paredes presentan un contraste semejante. Sobre la superficie del exosporio y en el episporio se observan fibras cortas, osmiofílicas. Escala: 1  $\mu\text{m}$
- C- Detalle de la pared en una lesura. El exosporio presenta una capa interna (Ei) delgada y una externa (Ee) con numerosas cavidades en su parte basal, rellenas con material osmiofílico. Por debajo de la lesura se observan gránulos de material con un contraste semejante a los del exosporio externo (puntas de flecha). Escala: 0.5  $\mu\text{m}$ .
- D- Detalle del exosporio, con una capa interna (Ei) delgada y una capa externa (Ee) de mayor espesor, con cavidades (flecha) y canales. Escala: 0.25  $\mu\text{m}$ .

### 3. 3. 5. *Marsilea mollis*

---

***Marsilea mollis* Robinson & Fernald**, Proc. Amer. Acad. 30: 123. 1895.

Tipo: México, Chihuahua, San Diego. *Hartman 604* (GH, isotipos: BM, F, GH, MICH, MSC, NY, UC, US).

*Marsilea fournieri* C. Chr., Index Filic. 418. 1906.

*Marsilea punae* Sota, Darwiniana 20 (1-2): 226. 1976.

**Megasporas** (Lám. 29, figs. A – D; lám. 30, figs. A, B)

Son de 450 - 605  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 320 - 498  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, circulares en vista polar y elipsoidales en vista ecuatorial (Lám. 29, fig. A). En el polo proximal posee una estructura en forma de papila (Lám. 29, figs. A, D). Esta es ancha y roma, de 25 - 58  $\mu\text{m}$  de altura y 94 - 105  $\mu\text{m}$  de diámetro basal. La superficie de la megaspora presenta un retículo poco marcado (Lám. 29, fig. B).

*Esporodermis*: (Lám. 29, fig. C; lám. 30, figs. A, B)

Exosporio: En sección, observado con MET, el margen presenta lomos irregulares. Está compuesto por dos capas; la interna es delgada, continua, fuertemente osmiofílica y la externa es de 2.1 – 2.8  $\mu\text{m}$  de espesor, de estructura homogénea, con cavidades en todo su espesor y canales en su parte media (Lám. 30, figs. A, B).

Episporio: es de 16.5 - 19.9  $\mu\text{m}$  de espesor, posee un grosor uniforme en las áreas distal y ecuatorial, mientras que se adelgaza en el área de la abertura.

En las áreas distal y ecuatorial está constituido por tres capas (Lám. 29, fig. D; lám. 30, fig. A). Al MEB se observa que la capa interna es de 1.2 – 2.3  $\mu\text{m}$  de espesor y está formada por cordones de sección circular, dispuestos desordenadamente. Al MET se observa que estos elementos pueden en algunos casos estar fusionados con la superficie del exosporio (Lám. 30, fig. B). El largo y el diámetro de estos cordones es menor en la parte más próxima al exosporio así como en la que está en contacto con el episporio medio.

La capa media del episporio es la de mayor grosor, de 15.3 – 17.5  $\mu\text{m}$  de espesor (Lám. 29, fig. C). Su estructura es lacunosa. Está formada por cordones dispuestos en diferentes



direcciones, parcialmente fusionados, conformando tabiques; los cordones al fusionarse dejan entre ellos espacios de diámetro variable. Los tabiques delimitan espacios prismáticos o tubulares, alargados en sentido radial, de 2.8 – 4.3  $\mu\text{m}$  de diámetro. Observados en una sección tangencial (Lám. 30, fig. A) se evidencia que hay interrupciones en los tabiques, que permiten la comunicación entre espacios adyacentes. Hacia el polo proximal estos espacios se tornan más o menos isodiamétricos (Lám. 29, fig. D).

La capa externa del episporio es de 50 - 150 nm de espesor, lamelar (Lám. 29, fig. C; lám. 30, fig. A).

**Microsporas** (Lám. 29, fig. E; lám. 30, figs. C, D; lám. 31, figs. E, F)

Son triletes, esferoidales, de 28 - 71  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 29, fig. E; lám. 31, fig. E). Cada lesura es de 4 - 16  $\mu\text{m}$  de longitud. La superficie es verrucosa-baculada-pilada y presenta algunas perforaciones (Lám. 29, fig. E). Los elementos de la ornamentación se disponen en varios niveles y pueden estar parcialmente fusionados.

*Esporodermis*: (Lám. 30, figs. C, D).

Exosporio: está compuesto por dos capas. Al MET se observa la interna, muy delgada, electrodenso y la externa, de 0.25 – 0.9  $\mu\text{m}$  de espesor, de aspecto homogéneo. La capa externa posee canales radiales y cavidades rellenas con material de fuerte contraste osmiofílico (Lám. 30, fig. C).

Episporio: está compuesto por dos capas. La capa interna es una lámina delgada, de 600 - 700 nm de espesor, con márgenes fuertemente osmiofílicos y un centro menos electrodenso, plegada. Los pliegues determinan espacios alargados radialmente, de 1.2 – 2.3  $\mu\text{m}$  de altura. Entre los pliegues de esta capa y entre ésta y el exosporio se encuentra una red de fibrillas (Lám. 30, figs C, D).

La capa externa es de 10 nm de espesor, compuesta por membranas delgadas superpuestas. Esta capa muestra diferentes aspectos de acuerdo a la parte de la espora seccionada. Sobre el episporio externo hay depósitos de material osmiofílico de tamaño variable (Lám. 30, figs. C, D).

Observaciones: En el ejemplar *Werner 842* se observa que dentro de cada microsporangio hay microsporas de dos tamaños diferentes. Las esporas de menor tamaño son las más numerosas (Lám. 31, fig. E). Se observaron además tres microsporas con exosporios individuales pero rodeadas por un mismo episporio (Lám. 31, fig. F).

### **Distribución**

Desde el norte de Arizona y Texas (Estados Unidos), su área continúa hacia el sur por regiones montañosas de Centro y Sudamérica, llegando hasta los Andes de Chile y noroeste de Argentina. En el Cono Sur se ha citado la presencia de esta especie en las siguientes regiones (Figura VIII):

**Argentina:** provincias de Jujuy, Tucumán

**Chile:** región de Coquimbo

### ***Material estudiado:***

**ARGENTINA:** **Jujuy**, Dto. Yaví, Pueblo Viejo, 10/01/1972, *Ruthsatz 260* (LP). Dto. Yaví, lagunita, planicie al O de los Siete Hermanos, 3500 m.s.m., 27/10/1967, *Werner 842* (LP). Dto. Yaví, 25/03/1982, *Kiesling 4004* (SI)

**CHILE: Región de Coquimbo**, Dto. Serena, 05/01/1967, *Ricardi et al. 1705* (LP). Dto. Ovalle, como de Socos a Ovalle. Llanos de Barraza, 12/10/1965, *Ricardi, Marticorena, Matthei 1236* (LP).

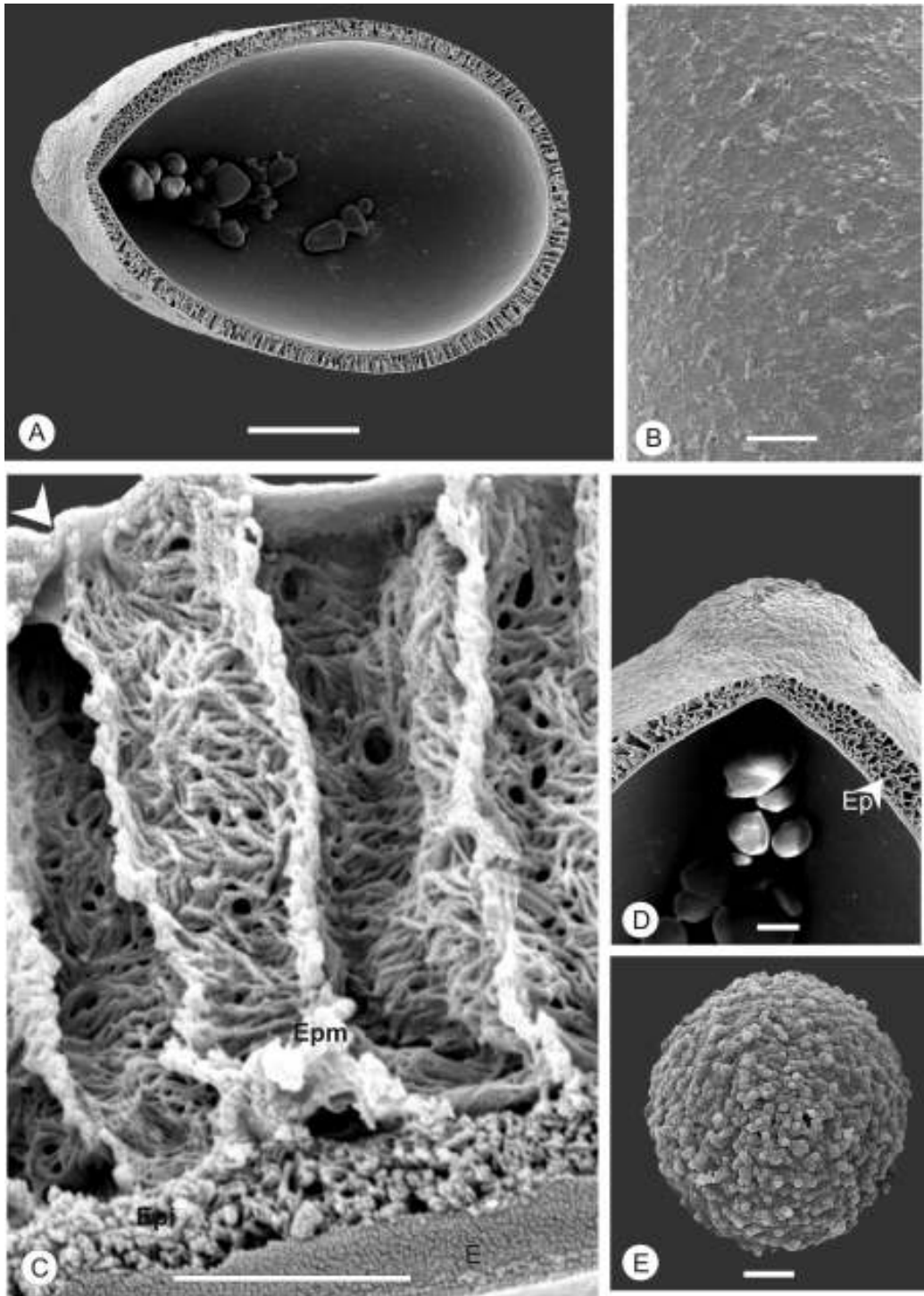


LÁMINA 29. Megasporas y microsporas de *Marsilea mollis* Robinson & Fernald observadas con MEB. Ejemplar: *Ruthsatz 260 (LP)*

- A- Megaspóra en sección, en vista ecuatorial. Hacia la izquierda se encuentra la papila, roma. El espesor de la pared es uniforme en las áreas distal y ecuatorial y se adelgaza hacia el área de la papila proximal. Escala: 100  $\mu\text{m}$
- B- Detalle de la superficie de la megaspóra, con gránulos que determinan un patrón reticulado poco marcado. Escala: 10  $\mu\text{m}$
- C- Sección de pared de la megaspóra. Se observan el exosporio (E), el episporio interno (Epi) con cordones vistos en sección, el episporio medio (Epm) con cordones fusionados formando tabiques, que determinan espacios alargados radiales. El episporio externo (punta de flecha) es una capa delgada, lamelar. Escala: 5  $\mu\text{m}$
- D- Detalle de la megaspóra de la fig. A. Se observa la papila roma. La pared en sección presenta un episporio (Ep, punta de flecha) de estructura lacunosa. Escala: 20  $\mu\text{m}$ .
- E- Microspóra en vista distal. La superficie presenta verrugas, báculo y pila. Escala: 5  $\mu\text{m}$

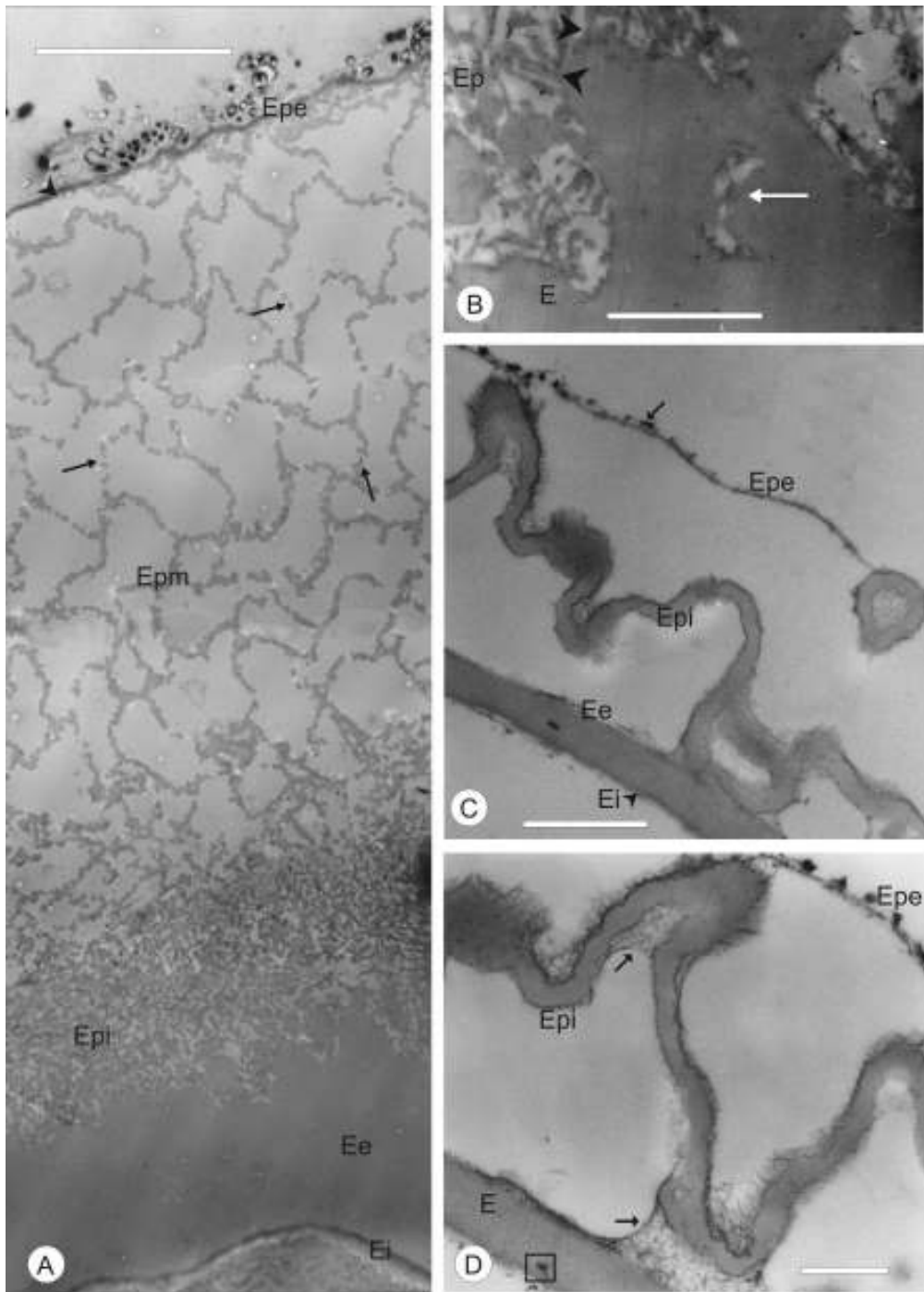


LÁMINA 30. Megasporas y microsporas de *Marsilea mollis* Rob. & Fern. observadas con MET. Ejemplar: *Ruthsatz 260 (LP)*.

- A- Megaspora, sección de pared. Se observa el exosporio, con dos capas: la interna (Ei), es delgada y osmiofílica. La capa externa del exosporio (Ee) es de mayor grosor, con un margen irregular y con cavidades en todo su espesor. Por encima se encuentra el episporio interno (Epi) integrado por cordones cortos, dispuestos en diferentes direcciones. El episporio medio (Epm) está formado por cordones, que se observan en sección, fusionados formando tabiques. Los cordones presentan diversos grados de fusión y se evidencian interrupciones en los tabiques (flechas). Hacia la superficie de la megaspora estos cordones se disponen de manera más compacta. El episporio externo (Epe, punta de flecha) es lamelar, delgado y continuo. Escala: 10  $\mu\text{m}$ .
- B- Detalle de la pared de una megaspora, en el área de contacto entre el exosporio (E) y episporio interno (Ep). En el exosporio se observan cavidades (flecha). Algunos de los elementos del episporio interno están fusionados al exosporio y poseen un contraste similar (puntas de flecha). Escala: 2  $\mu\text{m}$ .
- C- Microspora, sección de pared. En el exosporio se observan dos capas, la interna (Ei) es delgada, osmiofílica y la externa (Ee) es de mayor espesor. El episporio interno (Epi) es una lámina que forma pliegues de diferente amplitud. En algunos sectores de la superficie de la pared y entre los pliegues se observa una red de fibrillas. El episporio externo (Epe) es lamelar, continuo, con depósitos de material osmiofílico (flechas). Escala: 1  $\mu\text{m}$ .
- D- Microspora, sección de pared, detalle de la fig. C. Se observa el exosporio (E), con cavidades rellenas de material osmiofílico (recuadro). El episporio interno (Epi) es una lámina con márgenes electrodensos, plegada. Entre los pliegues del episporio y entre el episporio y exosporio se observa una red de fibrillas (flecha). El episporio externo (Epe) es lamelar, delgado, continuo y presenta depósitos osmiofílicos. Escala: 0.5  $\mu\text{m}$ .

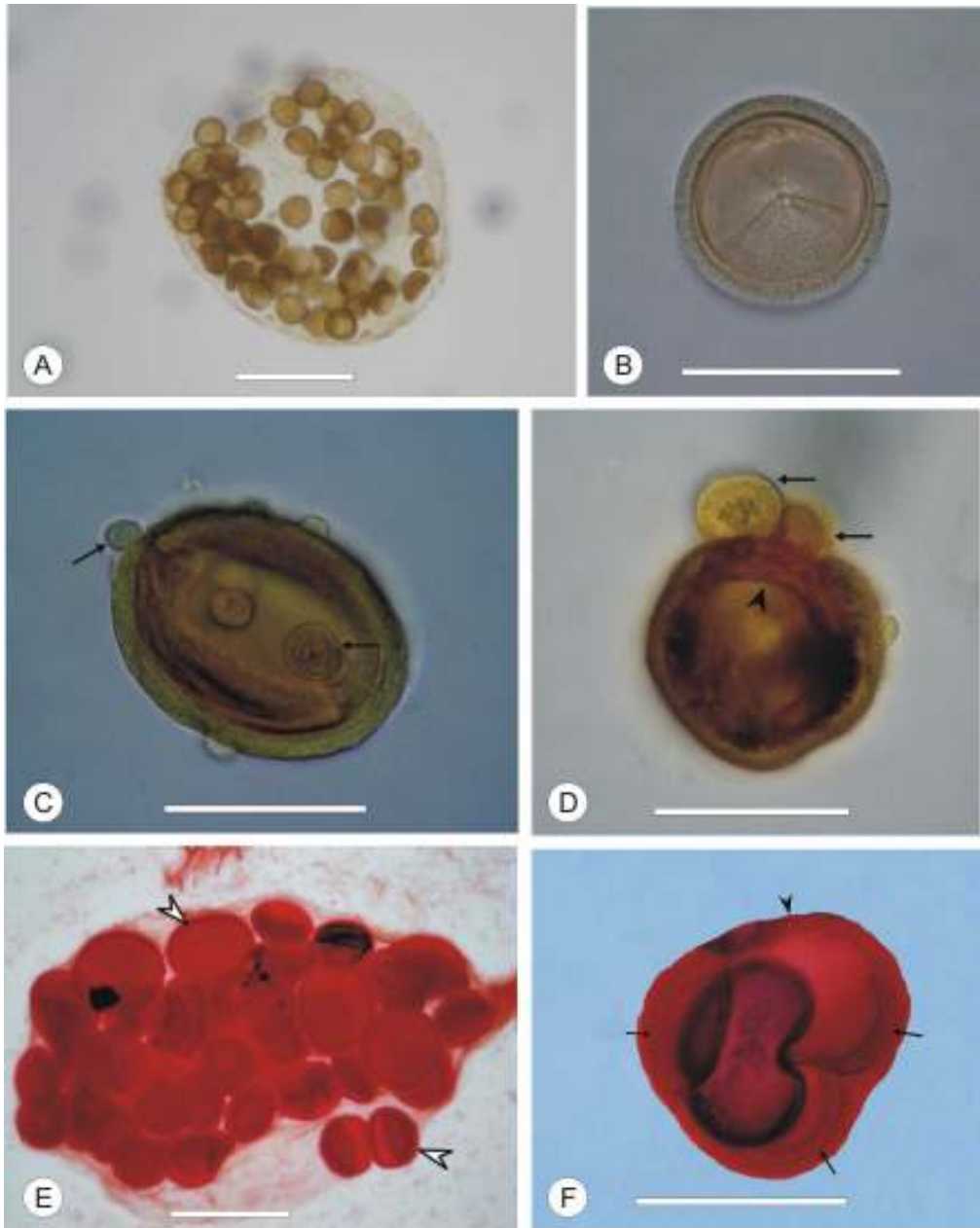


Lámina 31

LÁMINA 31. Microsporangio y microspora de *Marsilea ancylopoda* A. Braun, microsporas de *M. deflexa* A. Braun, microsporangio y microsporas de *M. mollis* Rob. & Fern. observados con MO.

Figs. A, B: *Marsilea ancylopoda* A. Braun

Figs. C, D: *Marsilea deflexa* A. Braun

Figs. E, F: *Marsilea mollis* Rob. & Fern.

A- Microsporangio, de pared delicada, conteniendo microsporas. Escala: 500  $\mu\text{m}$ .

*Mazzuconi 237* (BAB)

B- Microspora en vista proximal. Se observa el exosporio, castaño, con las lesuras. El episporio es de color castaño claro. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Mazzuconi 237* (BAB)

C, D-Microsporas, con un número variable de cuerpos esféricos adheridos a la superficie. En la microspora de la fig. D se observa el exosporio colapsado (punta de flecha), de color más oscuro que el episporio. Escalas: 50  $\mu\text{m}$ . *Fontana 770* (CTESN)

E- Microsporangio de pared delicada, que contiene microsporas de dos tamaños diferentes (puntas de flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Werner 842* (LP)

F- Tres microsporas cuyos exosporios están colapsados (flechas), rodeadas por un mismo episporio (punta de flecha). Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Werner 842* (LP)



### 3. 3. 6. *Marsilea polycarpa*

---

***Marsilea polycarpa* Hooker & Greville**, Icon. Filic. 2: t. 160. 1830.

Tipo: Demerare, Guyana. *Parker s.n.* K (lectotipo); (Isolectotipo: K; isotipo: GH )

*Marsilea brasiliensis* Martius, Icon. Pl. crypt. 4: t 73, f. 2. 1834.

*Marsilea polycarpa* var. *mexicana* A. Braun, Monatsber. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1870: 713. 1871.

*Zaluzianskia polycarpa* (Hooker & Greville) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 2: 823. 1891.

**Megasporas** (Lám. 32; lám. 33, fig. A)

Son de 510 - 522  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 281 - 411  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, de contorno circular en vista polar y elipsoidales en vista ecuatorial (Lám. 32, figs. A, D). En el polo proximal poseen una estructura en forma de papila, de 32 - 34  $\mu\text{m}$  de altura y 94 -115  $\mu\text{m}$  de diámetro en su base, con un anillo doble, de 20 - 22  $\mu\text{m}$  de altura (Lám. 32, figs. A, B, F). La superficie presenta elementos granulares, fusionados lateralmente formando cordones que determinan un retículo (Lám. 32, fig. E).

*Esporodermis*: (Lám. 32, fig. C; lám. 33, fig. A)

Exosporio: de 0.8  $\mu\text{m}$  de espesor. Observado al MEB es homogéneo y compacto (Lám. 33, fig. A)

Episporio: es de 25.4-26  $\mu\text{m}$  de espesor, uniforme en las áreas distal y ecuatorial (Lám. 32, fig. D) y más delgado en el área de la papila, de 2.4-3.2  $\mu\text{m}$  de espesor (Lám. 32, fig. G). En sección está constituido por tres capas (Lám. 33, fig. A)

La capa interna, de 1-3  $\mu\text{m}$  de espesor, está formada por cordones de sección circular, dispuestos en forma compacta y tangenciales con respecto a la superficie de la espora (lám. 33, fig. A).

La capa media del episporio es de 22-23.2  $\mu\text{m}$  de espesor. Está formada por cordones semejantes a los de la capa interna, dispuestos desordenadamente, fusionados de manera laxa formando tabiques. Los tabiques delimitan espacios prismáticos o tubulares, alargados en sentido radial, de 3.6-6  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 32, fig. C; lám. 33, fig. A). El episporio

externo está constituido por una capa delgada, lamelar, de 0.5 - 0.9  $\mu\text{m}$  de espesor, continua (Lám. 32, fig. C).

#### **Microsporas** (Lám. 33, figs. B, C)

Son triletes, esferoidales, de 50.6 - 64.7  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lámina 33, fig. B). Las lesuras son de 8 - 20  $\mu\text{m}$  de longitud. La ornamentación está integrada por elementos variados, tales como papilas, báculo y verrugas. En el caso de las verrugas, éstas son de contorno poliédrico (Lám. 33, fig. C). Se observan además escasas perforaciones.

Observaciones: En algunas de las megasporas del ejemplar *Rojas 7553* se observaron tres estructuras de 11- 15  $\mu\text{m}$  de diámetro sobre el polo proximal (Lám. 32, fig. B).

La estructura de la esporodermis no pudo ser determinada en la microsporas.

#### **Distribución**

Es una especie de distribución amplia en América, desde México, América Central y las Antillas Mayores hasta Sudamérica. El límite austral en el área de estudio se halla en el centro de Bolivia y Paraguay. En el Cono Sur la presencia de *M. polycarpa* ha sido citada para las siguientes regiones (Figura VIII):

**Bolivia:** departamentos de Beni, Santa Cruz.

**Paraguay:** departamento Central

#### **Material estudiado:**

**BOLIVIA:** Beni, Prov. Cercado, a 15 km de Trinidad, camino a Suchojere, 9/1977, *Rolleri* 7 (LP). **Santa Cruz**, S.l., s.f., *Guillén y Roca 4394* (SI)

**PARAGUAY:** Central, Costa del R. Paraguay, 09/1938, *Rojas 7553* (SI).

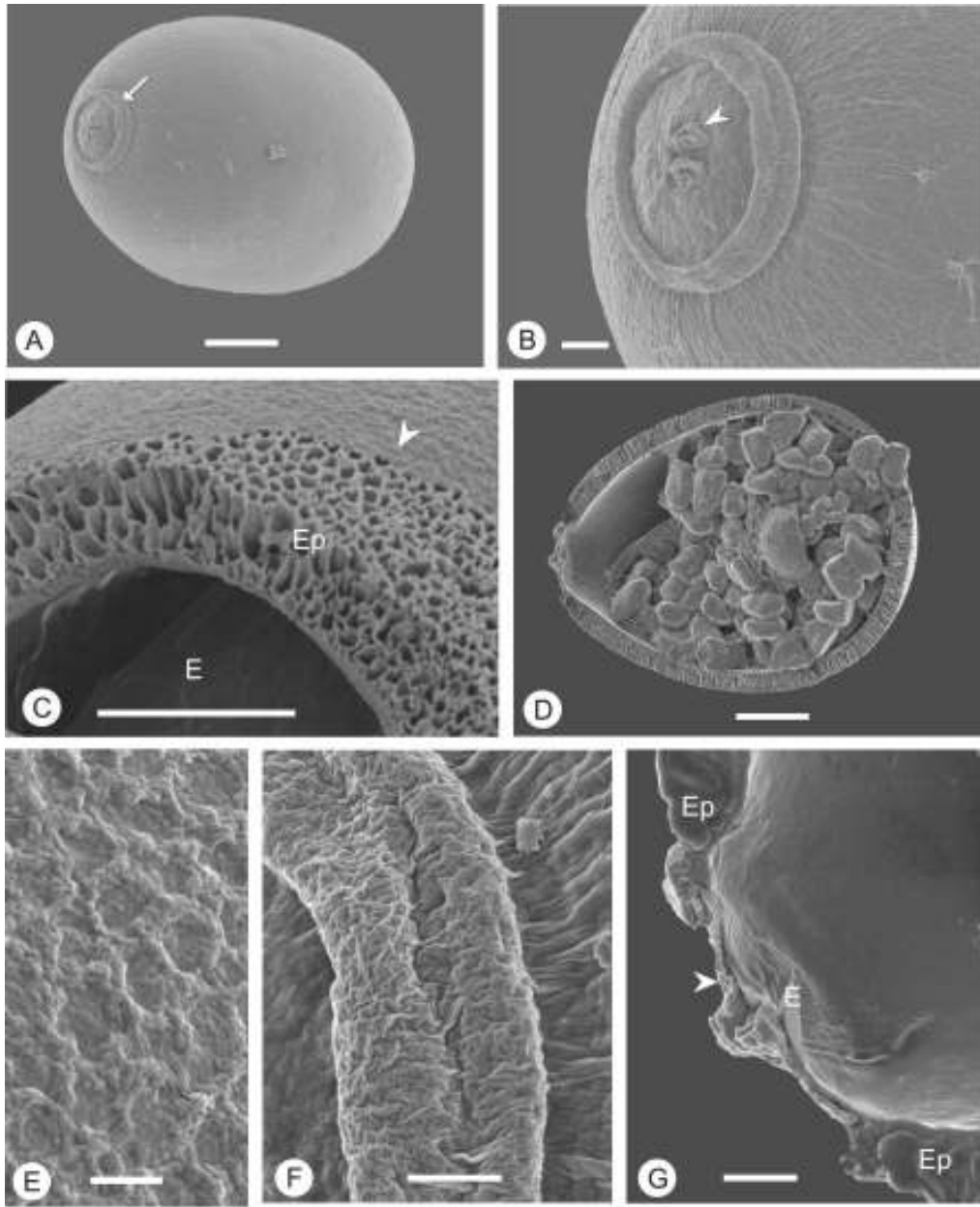


Lámina 32

LÁMINA 32. Megasporas y microsporas de *Marsilea polycarpa* Hooker & Greville observadas con MEB

- A- Megaspóra. Hacia la izquierda de la figura se encuentra el polo proximal, con un anillo (flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Rojas 7553* (SI).
- B- Detalle de la megaspóra de la fig. A. Sobre el polo proximal se observa un anillo doble, engrosado. En este sector de la pared se encuentran apoyadas tres estructuras (punta de flecha) que podrían ser megaspóras abortadas. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Rojas 7553*(SI).
- C- Sector distal y ecuatorial de la megaspóra, en un corte tangencial. La superficie está conformada por la capa externa del episporio, delgada, lamelar (punta de flecha). A través del corte de la pared se observa el exosporio (E) retraído y el episporio (Ep), con espacios alargados en sentido radial, que pueden verse en distintos planos de sección. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Rolleri 7* (LP).
- D- Megaspóra seccionada en vista ecuatorial. El espesor de la pared es uniforme en las áreas distal y ecuatorial de la megaspóra pero se adelgaza en la papila, ubicada hacia la izquierda de la imagen. Escala: 100  $\mu\text{m}$ . *Rojas 7553* (SI).
- E- Detalle de la superficie, con gránulos dispuestos formando un retículo bajo. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Rojas 7553* (SI).
- F- Detalle de la fig. A. Se observa la papila de la megaspóra, en forma de anillo doble. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Rojas 7553* (SI).
- G- Detalle de la parte proximal de la megaspóra de la fig. D. Se distinguen el exosporio (E) y el episporio (Ep), este es más delgado en la papila (punta de flecha). Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Rojas 7553* (SI).

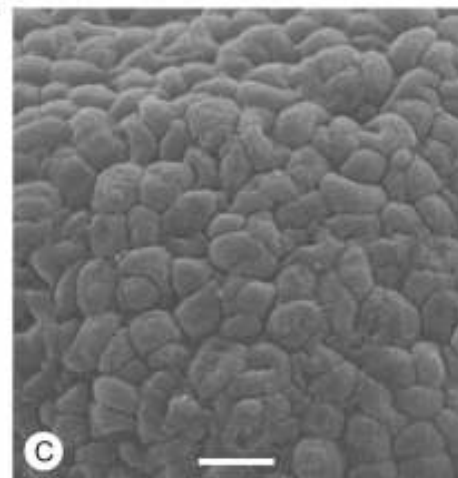
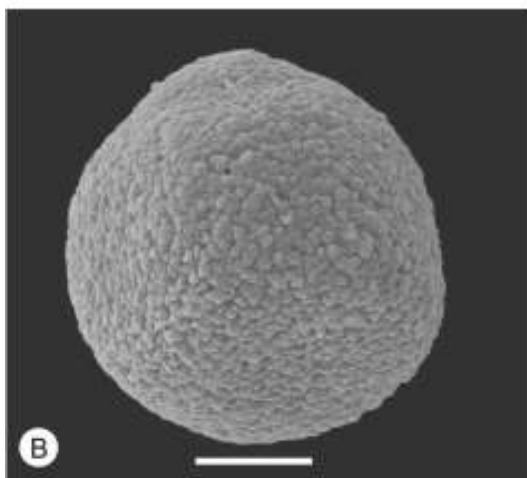
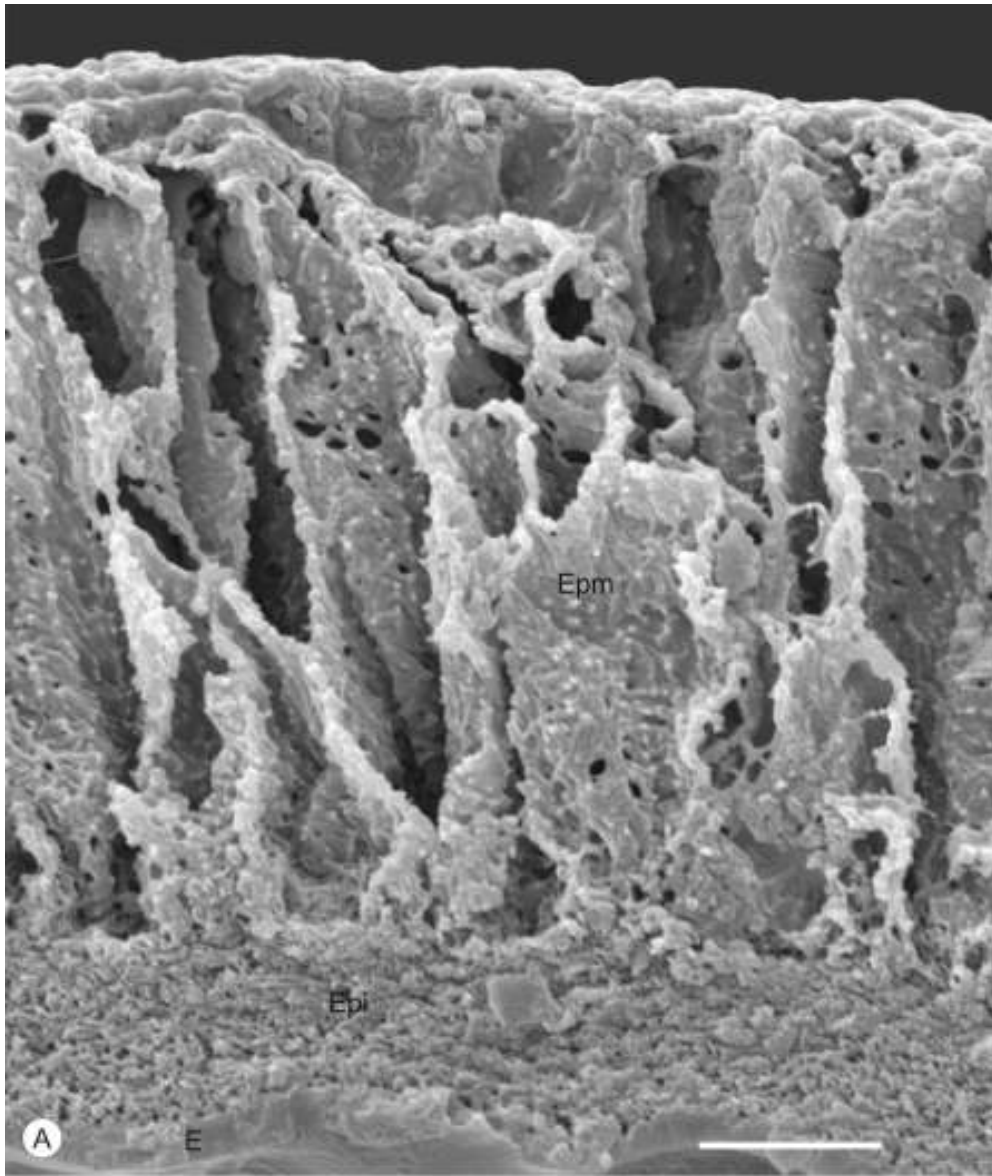


Lámina 33

LÁMINA 33. Megaspóra y microsporas de *Marsilea polycarpa* Hooker & Greville observadas con MEB

- A- Sección de pared de megaspóra. El exosporio (E) es compacto y homogéneo; el episporio interno (Epi) está compuesto por cordones, que se observan en sección. El episporio medio (Epm) presenta cordones fusionados formando tabiques, que a su vez determinan espacios alargados radiales. Los tabiques poseen perforaciones de diversos diámetros. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Rolleri 7* (LP).
- B- Microspóra en vista distal. La superficie presenta papilas y verrugas. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Rolleri 7* (LP).
- C- Detalle de la superficie distal de la microspóra de la fig. B. Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Rolleri 7* (LP).

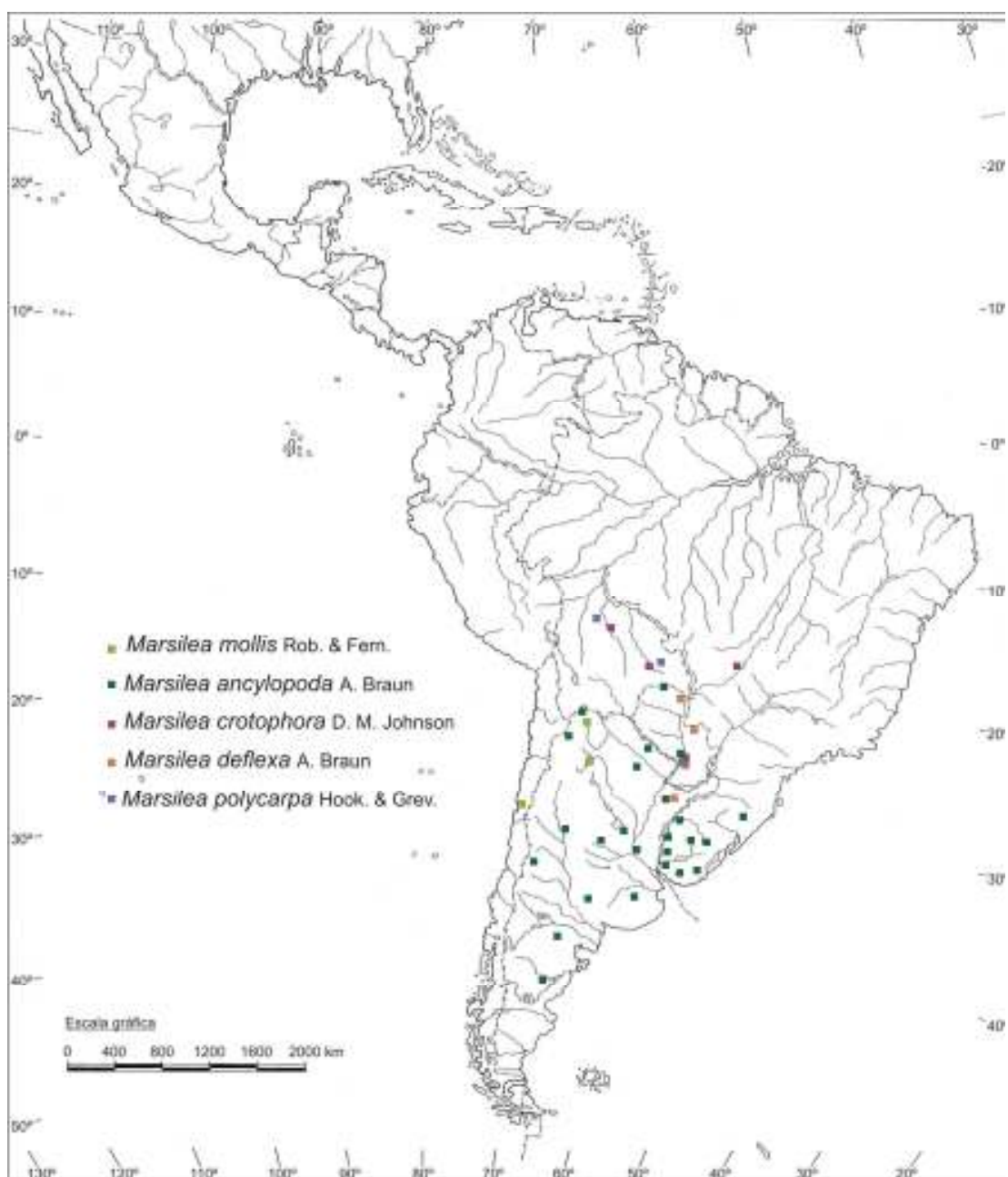


Figura VIII. Distribución de *Marsilea* en el Cono Sur de Sudamérica

### 3. 3. 7. *Pilularia americana*

---

***Pilularia americana*** A. Braun. Monastb. König. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1863: 435. 1864.

Tipo: United States of America, Arkansas, Fort Smith on the Arkansas River, *T. Nuttall s. f.* (*Herbarium Torrey, NY 149821*). Isotipo

*Pilularia mandonii* A. Braun, Monatsb. König. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1870: 752. 1870.

*Calamistrum americanum* (A. Braun) Kuntze, Revis. Gen. Pl., 2: 822. 1891.

*Pilularia valdiviana* Phil., nom. nud.

*Calamistrum mandoni* (A. Braun) Kuntze, Rev. Gen. Pl., 2: 822. 1891.

**Megasporas** (Lám. 34; lám. 35, figs. A – C; lám. 36, figs. A - C)

Son de 253-262.1  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 189.4-197  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, de contorno circular en vista polar (Lám. 34, fig. E) y ovoides en vista ecuatorial (Lám. 34, figs. A, B, F). En el polo proximal se encuentra una estructura en forma de papila alargada de 45.5- 80.3  $\mu\text{m}$  de longitud y de 60.6-65.1  $\mu\text{m}$  de diámetro en su base (Lám. 34, figs. A, B, D - F). La papila es lisa o posee pliegues o lomos más o menos marcados.

La superficie de la megaspora es rugulada a verrucosa (Lám. 34, fig. C). En algunos ejemplares se observa un retículo con muros bajos (Lám. 34, fig. D).

*Esporodermis*: (Lám. 34, figs. A - B; lám. 36, figs. A - B)

Exosporio: es de 0.7 – 2.3  $\mu\text{m}$  de espesor. Observado al MEB es de aspecto homogéneo y compacto (Lám. 35, fig. A). Al MET, esta pared presenta cavidades, que se evidencian por su contenido osmiofilico (Lám. 36, fig. A).

Episporio: es de 20 - 26  $\mu\text{m}$  de espesor en el área distal, de 7 – 13  $\mu\text{m}$  de espesor en el ecuador y se vuelve a engrosar entre 21- 24  $\mu\text{m}$  en el área proximal a ambos lados de la abertura (Lam. 34, fig. F). Está constituido por tres capas.



La capa interna es de 2.9 –5.5  $\mu\text{m}$  de espesor, formada por cordones delgados de sección circular, dispuestos en forma compacta, orientados tangencialmente con respecto a la superficie de la espora (Lám. 35, fig. A; lám. 36, figs. A, B).

La capa media es de 13.6 - 17  $\mu\text{m}$  de espesor. Se pueden distinguir en la misma dos estratos. Al MEB se observa que el estrato interno está constituido por cordones fusionados parcialmente, de mayor grosor que los del episporio interno, que dejan espacios amplios entre ellos (Lám. 35, fig. A). Con MET se observa que el estrato externo está constituido por cordones estrechamente fusionados hasta formar una pared continua, perforada, plegada, que determina cámaras alargadas en sentido radial de 2.3 – 3.4  $\mu\text{m}$  de diámetro, con extremos distales ligeramente convexos (Lám. 35, fig. A, lám. 36, figs. A, B). En las secciones de pared tomadas tangencialmente, se observan interrupciones en los tabiques que permiten la comunicación entre cámaras adyacentes (Lám. 36, fig. C).

La capa externa del episporio es delgada, de 0.25-0.6  $\mu\text{m}$  de espesor, con interrupciones (Lám. 35, fig. A).

En el área abertural la pared es de 1.1 – 2.5  $\mu\text{m}$  de espesor y se proyecta formando la papila (Lám. 35, fig. B). La papila está formada por una delgada capa de cordones anastomosados y una lámina continua hacia la superficie (Lám. 35, fig. C).

### **Microsporas** (Lám. 35, figs. D, E; lám. 36, figs. D, E; lám. 41, figs. A, B)

Son triletes, su diámetro polar es de 23 - 35  $\mu\text{m}$  y su diámetro ecuatorial es de 34 - 45  $\mu\text{m}$  (Lám. 35, fig. D; lám. 41, figs. A, B). En vista ecuatorial, la cara proximal es convexa y la cara distal puede ser convexa o aplanada. Cada lesura mide 7 - 13  $\mu\text{m}$ , son rectas o más o menos sinuosas. La superficie presenta verrugas o rúgulas (Lám. 35, fig. E). Los elementos esculturales son menos prominentes en el área proximal, entre las lesuras.

*Esporodermis*: (Lám. 36, figs. D, E)

Exosporio: es de 1 – 1.3  $\mu\text{m}$  de espesor, de margen irregular. En sección posee dos capas (Lám. 36, figs. D, E), la interna es delgada de 60 – 70 nm de espesor, compacta. La capa externa es de 1 – 1.2  $\mu\text{m}$  de espesor, con cavidades en su parte más profunda y numerosos canales en todo su espesor.

Episporio: Está integrado por tres capas (Lám. 36, fig. D). La capa interna está conformada por cordones dispuestos en forma tangencial con respecto a la superficie del exosporio. La densidad de cordones es variable en diferentes sectores de la microspora.

La capa media está formada por una lámina de 170 nm de espesor, continua y plegada, formando pliegues de 2.4 – 2.5  $\mu\text{m}$  de altura. Esta lámina presenta constricciones que podrían indicar que está compuesta por elementos fusionados (Lám. 36, fig. D). Los pliegues tienen diferente amplitud en los distintos sectores de la pared.

La capa externa es continua, delgada, fuertemente osmiofílica y se dispone siguiendo el contorno de los pliegues subyacentes, atenuando su relieve (Lám. 36, fig. D).

#### Observaciones:

En las megasporas de los distintos ejemplares analizados se observó variabilidad en la morfología de las papilas. Éstas pueden ser de baja altura, con lomos (Lám. 34, figs. A, D), presentar lomos poco marcados (Lám. 34, fig. B), ser alargada y estrecha (Lám. 34, fig. F) o con lomos que siguen una disposición espiral (Lám. 34, fig. E).

También se observó variabilidad en las características de la superficie de las megasporas, desde rugulada-verrucosa (Lám. 34, fig. C) hasta reticulada (Lám. 34, figs. D, E), probablemente dependiendo del grado de hidratación de la espora.

#### **Distribución**

Esta especie posee una distribución disyunta; se encuentra dentro de América, en Estados Unidos, Colombia, Venezuela, Chile, Bolivia, sur de Brasil, Argentina y Chile. Su límite austral se encuentra en la región Patagónica de Chile. En el Cono Sur se ha citado la presencia de esta especie en las siguientes regiones (Figura IX):

**Argentina**: provincias de Santa Fe, La Rioja, Córdoba, Entre Ríos, Buenos Aires, Río Negro, Neuquén.

**Bolivia**: departamento de La Paz

**Brasil**: estado de Rio Grande do Sul

**Chile**: regiones de Coquimbo, Valparaíso, Metropolitana (Santiago), O'Higgins, Maule, Bío-Bío, Araucanía, Los Lagos

**Uruguay**: departamento de Canelones

***Material estudiado:***

**ARGENTINA:** Buenos Aires, La Plata, 20/11/1940, *Perrone 92* (SI). La Plata, 17/09/1906, *Pastore 101* (LP). La Plata, 20/10/1940, *Pérez Moreau 36453* (BA). La Plata, 11/1923, *Molfino s.n°* (BAB). Entre Ríos, Federación, Santa Ana, 12/12/1965, *Burkart 26115* (SI). S.l., s.f., *Gamerro 26016* (SI), Río Negro, S.l., s.f., *Gabellone 9* (LP)

**BRASIL:** Rio Grande do Sul, Esteio, Chac. Cristo Rei, 14/11/1955, *Rambo 7192* (PACA)

**CHILE:** Región de los Lagos, Valdivia, s.f. *Philippi 31905* (LP)

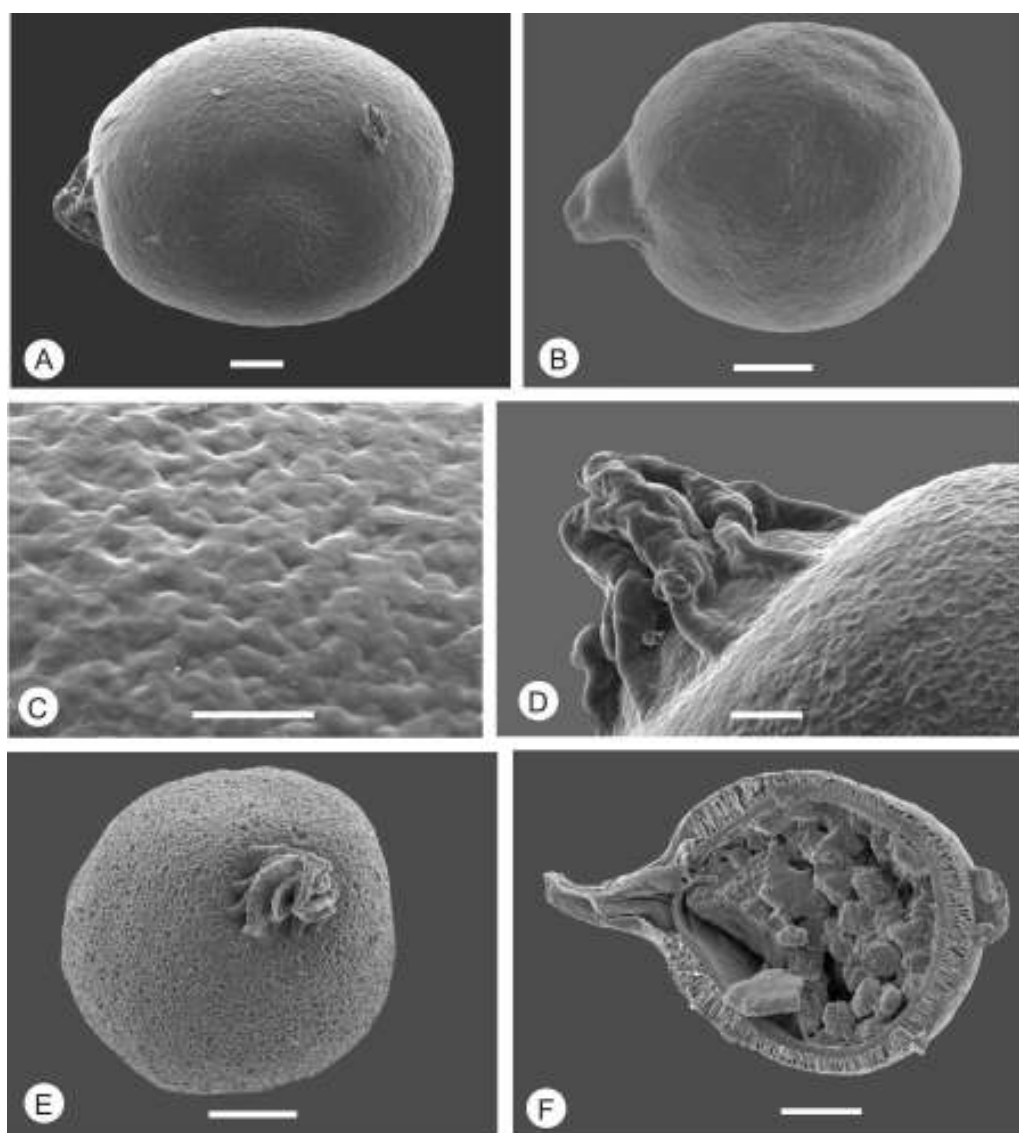


Lámina 34

LÁMINA 34. Megasporas de *Pilularia americana* A. Braun observadas con MEB

- A- Megaspóra en vista ecuatorial. El polo proximal se encuentra orientado hacia la izquierda de la imagen, en él se observa la papila, con lomos. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Rambo 7192* (PACA).
- B- Megaspóra en vista ecuatorial, la papila proximal está ubicada hacia la izquierda de la imagen y presenta lomos poco marcados. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Burkart 26115* (SI).
- C- Detalle de la superficie de la megaspóra de la fig. A. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Rambo 7192* (PACA).
- D- Detalle de la fig. A. Papila, con pliegues en toda su longitud. Se observa la superficie de la megaspóra en este sector, reticulada. Escala: 20  $\mu\text{m}$ . *Rambo 7192* (PACA)
- E- Megaspóra en vista polar proximal. La megaspóra está deshidratada y la superficie se observa reticulada. La papila posee lomos de disposición espiralada. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Burkart 26115* (SI).
- F- Megaspóra seccionada, en vista ecuatorial. La pared presenta engrosamientos diferenciales en las distintas áreas de la megaspóra, es más delgada en el ecuador y se proyecta sobre el polo proximal formando una papila alargada. Escala: 50  $\mu\text{m}$ . *Burkart 26115* (SI).

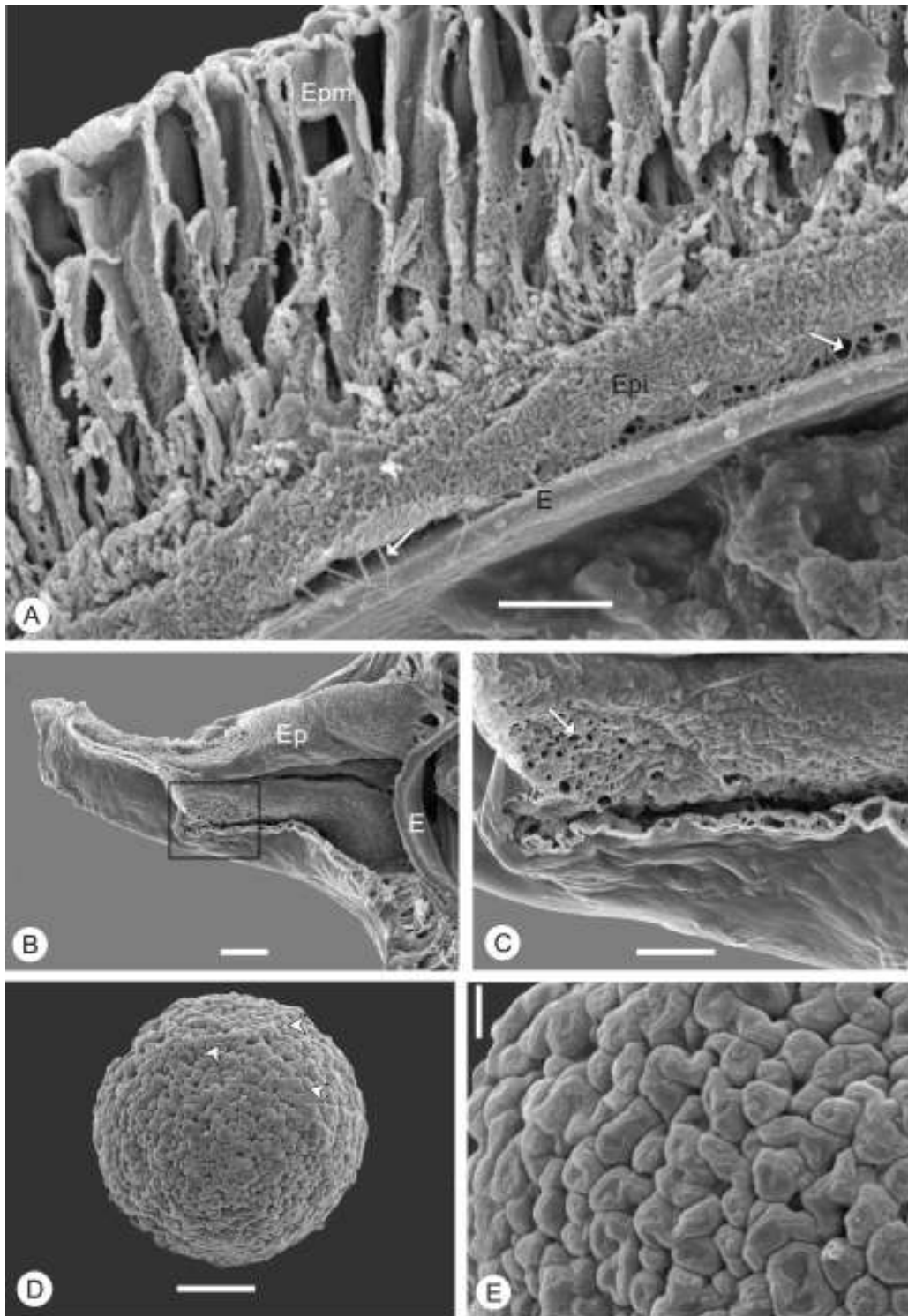


LÁMINA 35. Megasporas y microsporas de *Pilularia americana* A. Braun observadas al MEB.

- A- Megaspóra, sección de pared. El exosporio (E) es compacto y homogéneo, el episporio interno (Epi) está integrado por cordones dispuestos tangencialmente con respecto a la superficie y se encuentra parcialmente separado del exosporio. Entre ambas paredes se pueden individualizar algunos cordones (flechas). El episporio medio (Epm) está compuesto por cordones fusionados, su estructura se hace más compacta hacia la superficie. Esta capa posee espacios alargados en sentido radial. Escala: 5  $\mu\text{m}$ . *Burkart 26115* (SI).
- B- Detalle del área proximal de la megaspóra de la lám. 34, fig. F. Se observan el exosporio (E) y el episporio (Ep). El episporio presenta un espesor reducido, se separa del exosporio y se proyecta formando la papila. Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Burkart 26115* (SI).
- C- Detalle de la papila del ejemplar de la fig. B (área del recuadro). La estructura de la papila está formada por cordones entrelazados (flecha) y una capa delgada, continua hacia el exterior. Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Burkart 26115* (SI).
- D- Microspóra. Se observan las lesuras (puntas de flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$ . *Burkart 26115* (SI).
- E- Detalle de la superficie de la microspóra, verrucosa-rugulada. Escala: 2  $\mu\text{m}$ . *Burkart 26115* (SI).

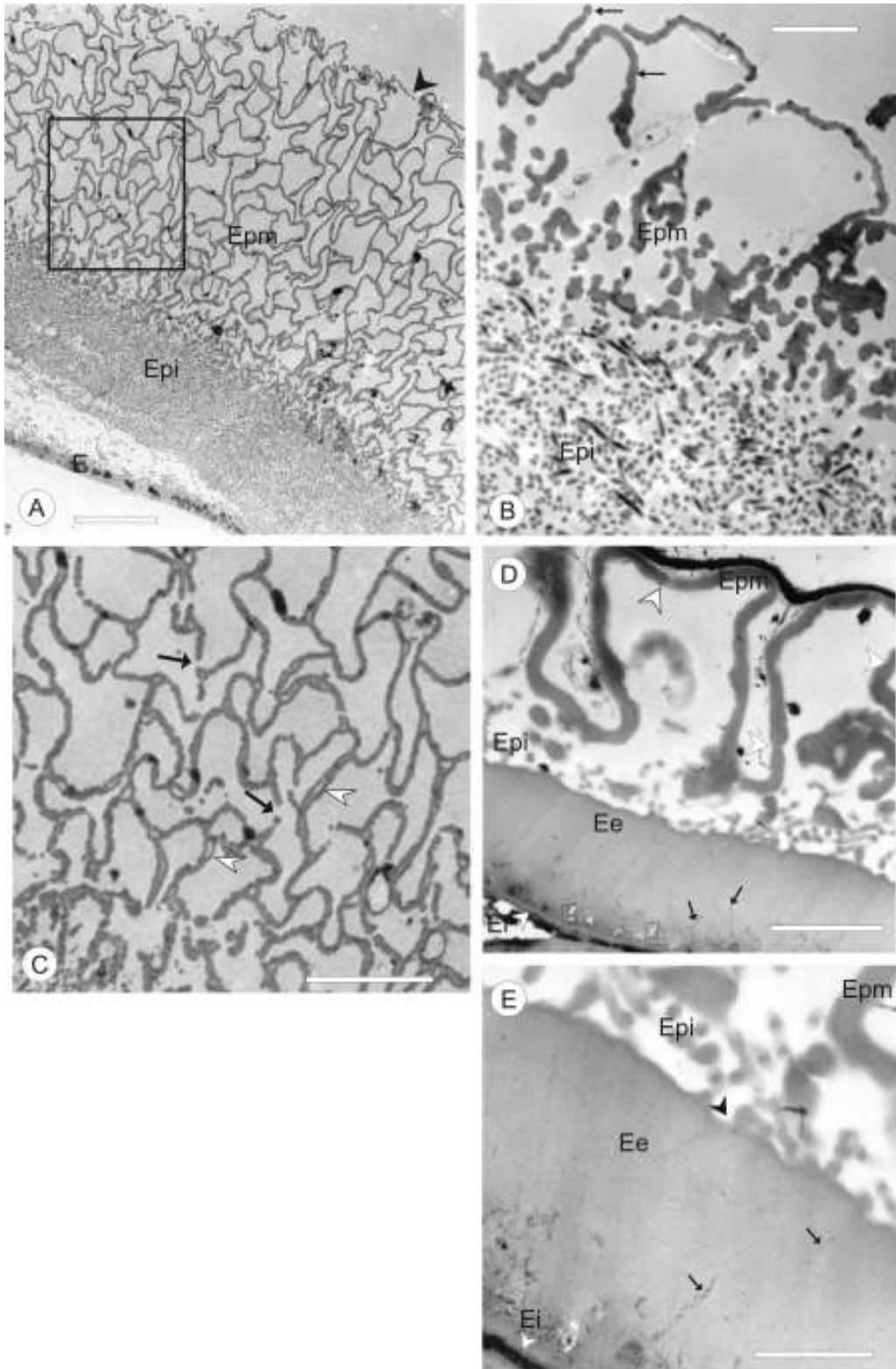




LÁMINA 36. Megasporas y microsporas de *Pilularia americana* A. Braun observadas con MET. Ejemplar: *Perrone 92* (LP)

- A- Megaspóra, sección tangencial de pared. Se observa el exosporio (E), parcialmente separado del episporio. El episporio interno (Epi) está integrado por cordones, el episporio medio (Epm) presenta cordones parcialmente fusionados formando tabiques. Estos tabiques delimitan espacios en todo el espesor de la capa. En la superficie se observan interrupciones (punta de flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$ .
- B- Megaspóra, detalle de una sección de pared en otro sector de la megaspóra. Se observan el episporio interno (Epi) con cordones, algunos de ellos son evidentes en sección y otros en vista lateral. El episporio medio (Epm) es de espesor reducido, conformado por cordones de mayor diámetro que los del episporio interno, fusionados de manera más o menos compacta. Hacia el exterior de esta capa los cordones están fusionados formando una lámina y se evidencian como constricciones (flechas) en algunos puntos. Escala: 2  $\mu\text{m}$ .
- C- Megaspóra, área del recuadro en la fig. A. Detalle del episporio medio, se observan distintos grados de fusión en los cordones que lo integran. En varios sectores se evidencia la estructura de los tabiques conformados por una doble capa de cordones fusionados (puntas de flecha). Hay interrupciones en los tabiques (flechas) que permiten la comunicación entre distintas áreas adyacentes de la pared. Escala: 5  $\mu\text{m}$ .
- D- Microspóra, sección de pared. El exosporio presenta dos capas, la capa interna (Ei), es continua, delgada y compacta. La capa externa (Ee), de mayor espesor, presenta canales (flechas) y cavidades (recuadros) en su parte más profunda. Por encima se localiza el episporio interno (Epi), conformado por cordones. El episporio medio (Epm), es una lámina delgada, plegada. En algunos sectores de la pared se observan constricciones (punta de flecha blanca). Sobre la superficie se observa una capa electrodensa que sigue el contorno de los pliegues del episporio medio. Escala: 1  $\mu\text{m}$ .
- E- Microspóra, sección de pared. Detalle del exosporio y zona de contacto exosporio/episporio. En el exosporio se observan dos capas, la interna (Ei) delgada

y compacta y la externa (Ee) con cavidades en su parte más profunda y canales en todo su espesor (flechas). El episporio interno está formado por cordones que en algunos sectores se fusionan con el exosporio (punta de flecha). En la parte superior derecha de la imagen se observa parte del episporio medio (Epm). Escala: 1  $\mu$ m.

### 3. 3. 8. *Regnellidium diphyllum*

---

***Regnellidium diphyllum* Lindman**, Arkiv för Botanik 3 (6): 14, figs. 1 - 2. 1904.

Tipo: Brasil, Rio Grande do Sul. *Expedición Regnell 1 A 933, 1229.* (S)

**Megasporas** (Lám. 37; lám. 38, figs. A – D; lám. 39; lám. 41, fig. C)

Son de 455.6 - 554.5  $\mu\text{m}$  de diámetro polar y 466.7 - 600  $\mu\text{m}$  de diámetro ecuatorial, esferoidales a ovoides (Lám. 37, figs. A, B; lám. 41, fig. C). En el polo proximal poseen una estructura en forma de papila, de 89.5 – 118.5  $\mu\text{m}$  de altura y 131.8 – 285.7  $\mu\text{m}$  de diámetro basal. La papila presenta segmentos plegados con una disposición espiralada (Lám. 37, figs. A, C, D).

La superficie presenta características diferentes en las distintas áreas de la espora. Es verrucosa en el área proximal (Lám. 37, figs. A, C, D), verrucosa-equinulada en el área distal, y en la zona ecuatorial presenta proyecciones delgadas, elevadas. Estas proyecciones tienen apariencia membranosa al observarse con MEB (37, fig. A).

*Esporodermis*: (Lám- 37, fig. E; lám. 38, figs. A – D; lám. 39)

Exosporio: es de 1.4 – 1.8  $\mu\text{m}$  de espesor (Lám. 37, fig. E; lám. 38 fig. B; lám. 39, figs. A - C), con dos capas. La interna, muy delgada, es electrodensa al observarse con MET. La externa, que representa la mayor parte del espesor del exosporio, es homogénea, con escasos espacios internos, de diámetro variable (Lámina 39, fig. B).

Episporio: es de espesor uniforme de 60 - 67  $\mu\text{m}$  en las áreas distal y ecuatorial (Lám. 37, fig. B). En sección está integrado por tres capas (Lám. 37, fig. A; lám. 39, fig. A). La capa interna es de 2.3 - 3  $\mu\text{m}$  de espesor, está compuesta por cordones dispuestos en forma compacta, orientados tangencialmente respecto a la superficie (Lám. 37, fig. B; lám. 38, figs. A, B). Al MET se observa la continuidad de los cordones con la parte externa del exosporio (Lám. 39, fig. B).

La capa media es de 57 - 64  $\mu\text{m}$  de espesor, posee cordones de mayor diámetro que se fusionan laxamente, dejando grandes espacios en su estrato más profundo (Lám. 38, fig. A; lám. 39, fig. A). El estrato más externo de esta capa está constituido por cordones fusionados

completamente, formando tabiques. Estos tabiques determinan a su vez espacios alargados radialmente. (Lám. 37, fig. E; lám. 39, fig. A). Hacia la superficie los tabiques se extienden y fusionan a modo de casquete, los cordones se evidencian como elementos granulares dispuestos en forma más o menos compacta (Lám. 38, fig. C; lám. 39, fig. A).

La superficie de la megaspora está constituida por una capa continua, de 300 – 800 nm de espesor, con cámaras en su interior (Lám. 38, fig. C; lám. 39, fig. A). Al TEM esta capa externa es electrodensa, con un contraste diferente al del resto de la pared.

En el área abertural se produce una separación entre el exosporio y el episporio, este último se proyecta y forma la papila (Lám. 37, fig. B; lám. 38, fig. D; lám. 39, fig. C). La pared en la papila es de estructura lacunosa, con la superficie interna revestida por cordones y la externa lamelar (Lám. 38, fig. D).

**Microsporas** (Lám. 38, figs. E - G; lám. 40; lám. 41, figs. C – E)

Son triletes, esferoidales, de 40 - 56  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lám. 38, figs. E, F; lám. 41, figs. C - E). En el polo proximal se encuentra una estructura en forma de papila, de 4 – 8  $\mu\text{m}$  de altura y 5.3 – 10.6  $\mu\text{m}$  de diámetro basal. La superficie es verrucosa, las verrugas están fusionadas lateralmente por muros bajos determinando un patrón reticulado (Lám. 38, fig. G).

*Esporodermis*: (Lám. 40).

Exosporio: es de 850 – 1300 nm de espesor. Observado con MET (Lám. 40, fig. B), en sus partes media y profunda presenta un sistema de cavidades interconectados. Esta parte lacunosa representa más de la mitad del espesor total del exosporio. La parte externa del exosporio es compacta; sobre la superficie se observa una capa continua, delgada, electrodensa, de 30 nm de espesor.

Episporio: está compuesto por tres capas (Lám. 40, figs. A, B), la interna está formada por cordones de 70 nm de diámetro que se disponen en diferentes direcciones y se fusionan. Según el plano de sección se hace evidente que los cordones presentan continuidad con el exosporio. En el área abertural esta capa está ausente (Lámina 40, fig. A)

La capa media del episporio es una lámina delgada de 280 nm de espesor, plegada. Al MET presenta el mismo contraste que el exosporio. En algunos puntos se observan elementos de sección circular fusionados a esta capa (Lám. 40, figs. A, B). El episporio

medio se proyecta sobre la abertura formando la papila, con pliegues secundarios menores sobre el plegamiento principal (Lám. 40, fig. A).

Por fuera se encuentra una tercer capa, delgada, lamelar (Lám. 40, fig. B).

#### Observaciones:

Megasporas: Al MET en el ejemplar *Brauner 135* se observó sobre la superficie en el área de la papila un cuerpo aproximadamente esférico, de 4.2  $\mu\text{m}$  de diámetro, con contraste y estructura similares a los del episporio (Lám. 39, fig. D).

Microsporas: Al MO, en el ejemplar *Brauner 135* se observaron pares de microsporas con exosporios individuales pero que comparten un mismo episporio. (Lám. 41, fig. E).

#### **Distribución**

Esta especie es endémica del área comprendida por el sudeste de Brasil, la provincia de Corrientes (Argentina) y Uruguay. Se ha citado su presencia en las siguientes regiones (Figura IX):

**Argentina:** provincia de Corrientes

**Brasil:** estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul

**Uruguay:** departamentos de Paysandú, Cerro Largo, Treinta y Tres, Rocha.

#### ***Material estudiado:***

**ARGENTINA: Corrientes**, 87 km W de Posadas, on the road to Corrientes, 22/02/1970, *D. S. Mitchell 1224* (LP).

**BRASIL: Rio Grande do Sul**, Pelotas, 25/11/1959, *Brauner 135* (SI). Pelotas, 07/1969, *Moraes s.n°* (SI). Dto. São Leopoldo, 25/09/1925, *Rambo s.n°* (SI). Km 37 do BR-2, entre arroio dos Ratos e Guaíbo, 30 /10 /1961, *Pabst, Pereira 6584* (LP). Pedras Altas, Serra do Herval, 450 m.s.m., 01/11/1961. *Pabst 6524, Pereira 6698* (LP).

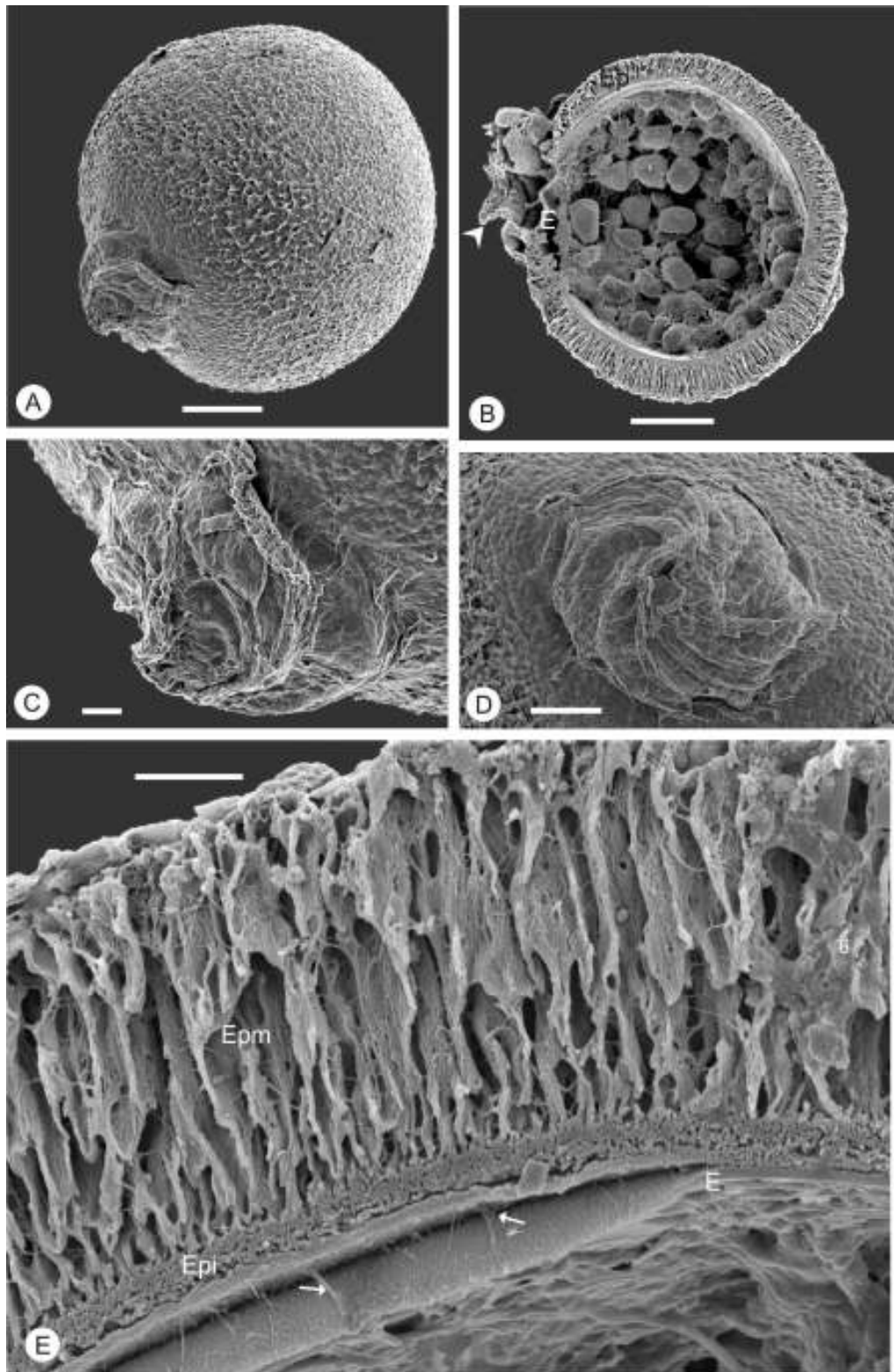


Lámina 37

LÁMINA 37. Megasporas de *Regnellidium diphyllum* Lindm. observadas con MEB.  
Ejemplar: *Brauner 135* (SI)

- A- Megaspora completa, el polo proximal está orientado hacia la izquierda, donde se encuentra la papila. La ornamentación varía según el área, en la zona ecuatorial es más marcada. Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- B- Megaspora en sección, la forma es subcircular en esta vista y la papila está orientada hacia la izquierda. El exosporio (E) es continuo, de espesor uniforme en toda la megaspora. El episporio (Ep) es de espesor uniforme en las áreas distal y ecuatorial y más delgado en el área proximal. En este sector el episporio se separa del exosporio y forma la papila (punta de flecha). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .
- C- Detalle de la papila de la fig. A. La misma está formada por segmentos que se disponen en forma espiralada. Es visible además parte de la superficie proximal, verrucosa. Escala: 20  $\mu\text{m}$ .
- D- Detalle de la papila observada en vista polar. Los pliegues se disponen en espiral. Se observa además parte de la superficie proximal. Escala: 50  $\mu\text{m}$ .
- E- Sección de pared. Se observan el exosporio (E) y por encima de éste, la capa más interna del episporio, parcialmente separada. Al producirse esta separación, se observan las unidades estructurales del episporio extendidas (flechas). El episporio interno (Epi) está integrado por cordones (que se observan en sección). El episporio medio (Epm) está formado por cordones que se fusionan formando tabiques. Estos tabiques determinan espacios tubulares, alargados en sentido radial. Perforaciones de distinto diámetro se observan en las paredes y determinan un espacio intercomunicado continuo. Escala: 10  $\mu\text{m}$ .

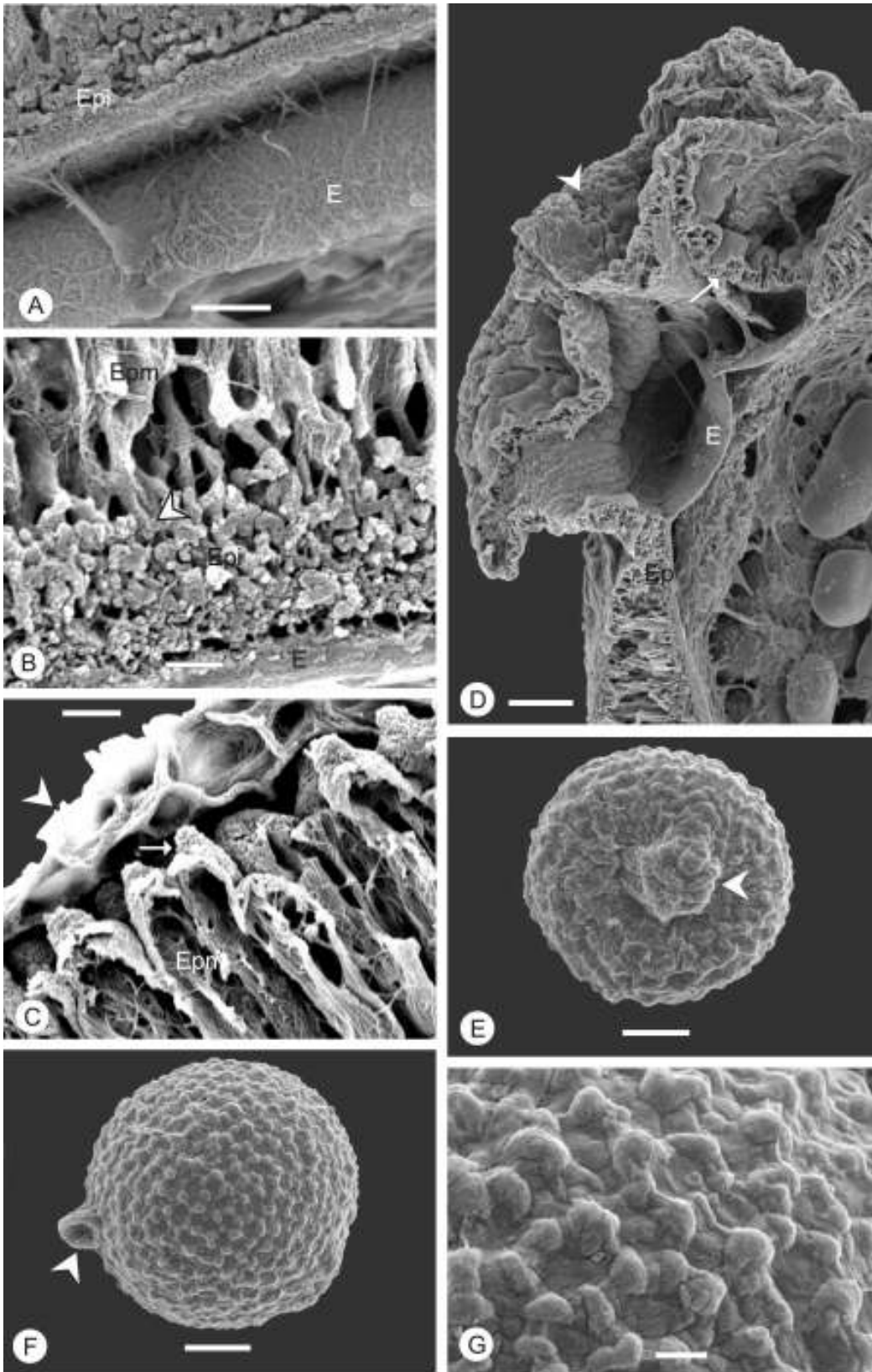




LÁMINA 38. Megasporas y microsporas de *Regnellidium diphyllum* Lindm. observadas con MEB. Ejemplar: *Brauner 135* (SI).

- A- Detalle de la sección de pared en la megaspora de la lám. 37, fig. E. Se evidencian el exosporio (E) y la parte interna del episporio (Epi). Esta capa interna del episporio está parcialmente separada y sobre la superficie del exosporio se observan las unidades estructurales (cordones) dispuestas tangencialmente. Escala: 2  $\mu\text{m}$ .
- B- Detalle del sector de pared que comprende al exosporio (E), episporio interno (Epi) y parte inferior del episporio medio (Epm). En el episporio interno se observan cordones en sección, estos cordones se fusionan hacia la parte superior (punta de flecha) y conforman las bases de los tabiques del episporio medio. En la superficie de los tabiques del episporio medio hay cordones y grandes perforaciones. Escala: 2  $\mu\text{m}$ .
- C- Detalle del sector más externo de la pared, que comprende parte del episporio medio (Epm) y la capa externa, lamelar, con algunos pliegues y cámaras (punta de flecha). Los tabiques del episporio medio delimitan espacios alargados y se unen en su parte distal, conformando un casquete sobre el que se evidencian los extremos terminales de los cordones como gránulos (flechas). Escala: 5  $\mu\text{m}$ .
- D- Detalle de la papila de la megaspora de la lám. 37, fig. B. En este área el exosporio (E) y el episporio están parcialmente separados. La sección permite apreciar que la papila está compuesta por el episporio, de estructura lacunosa (flecha). La superficie externa de la papila es continua, rugulada a verrucosa (punta de flecha). Escala: 20  $\mu\text{m}$ .
- E- Microspora en vista polar proximal, puede observarse la papila (punta de flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$ .
- F- Microspora en vista ecuatorial, la papila proximal está orientada hacia la izquierda (punta de flecha). Escala: 10  $\mu\text{m}$ .
- G- Detalle de la superficie de una microspora con verrugas unidas formando un retículo. Escala: 2  $\mu\text{m}$

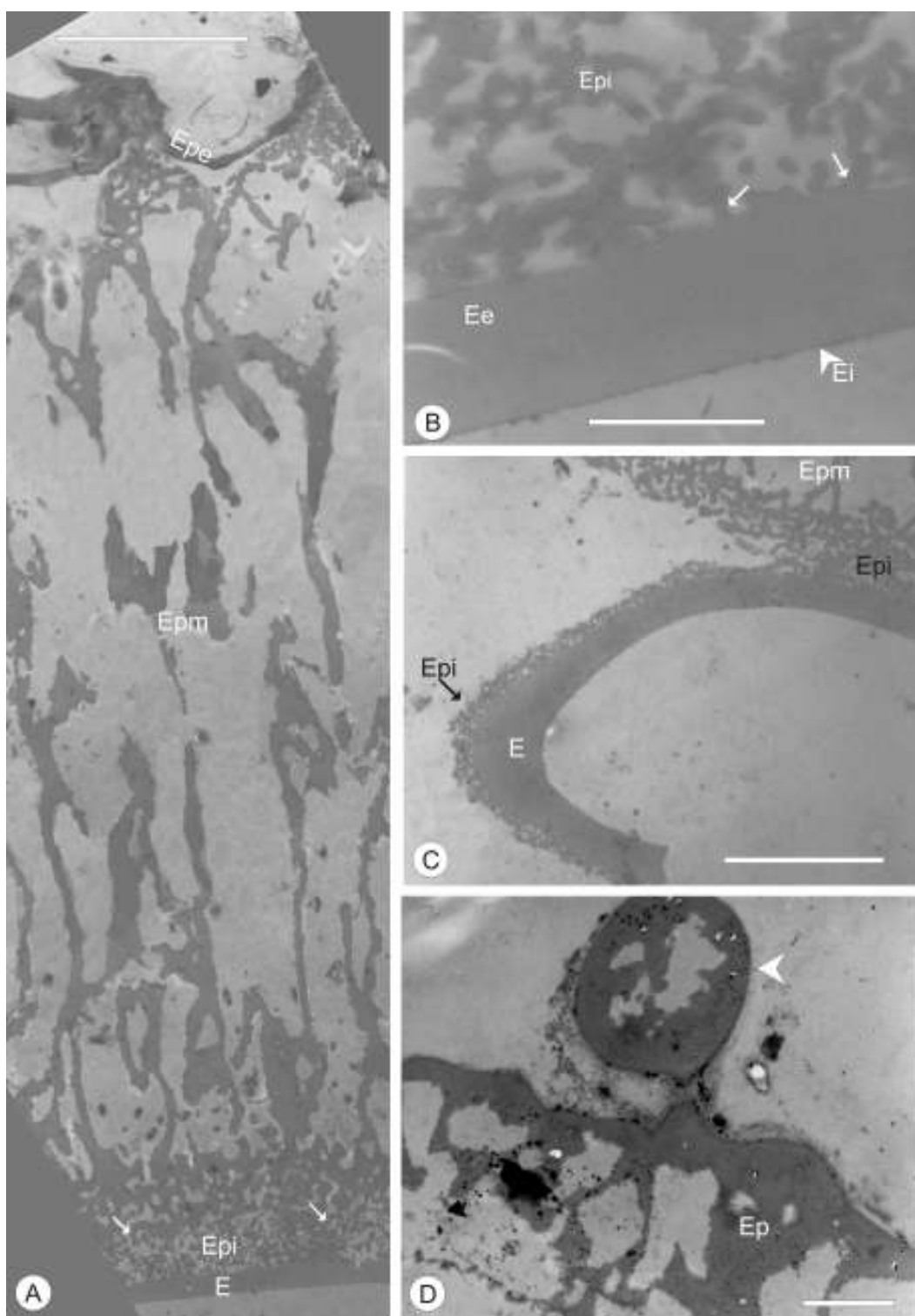


LÁMINA 39. Megasporas de *Regnellidium diphyllum* Lindm. Secciones de pared observadas con MET. Ejemplar: *Brauner 135* (SI).

- A- Sección de pared. El exosporio (E) es compacto, sobre éste se encuentra el episporio, con tres zonas claramente discernibles: la interna (Epi), formada por cordones dispuestos tangencialmente, que se observan en sección. Distalmente los cordones del episporio interno tienen continuidad (flechas) con los elementos del episporio medio. El episporio medio (Epm) está conformado por cordones de mayor diámetro fusionados formando tabiques que determinan espacios alargados radialmente, cuyos extremos distales se fusionan cerrándolos a manera de casquetes. La capa más externa del episporio (Epe) es lamelar. Escala: 10 µm.
- B- Detalle del exosporio y parte del episporio interno (Epi). El exosporio presenta dos capas, la interna (Ei) es delgada y electrodensa. La capa externa del exosporio (Ee) es de mayor espesor y compacta. En el episporio interno (Epi) se observan cordones, algunos de ellos en sección. Algunos de los cordones muestran continuidad con el exosporio (flechas). Ambas paredes, exosporio y episporio, poseen un contraste semejante. Escala: 10 µm.
- C- Detalle de una sección de la pared en el área proximal. El exosporio (E) y el episporio se encuentran unidos en este sector (ángulo superior derecho). Hacia el área proximal hay una separación en la parte más interna del episporio. Puede observarse que parte del episporio interno (Epi) queda adherido al exosporio (flecha). Escala: 10 µm.
- D- Cuerpo esférico (flecha) sobre la superficie del episporio (Ep), con un contraste y estructura similar. Escala: 2 µm.

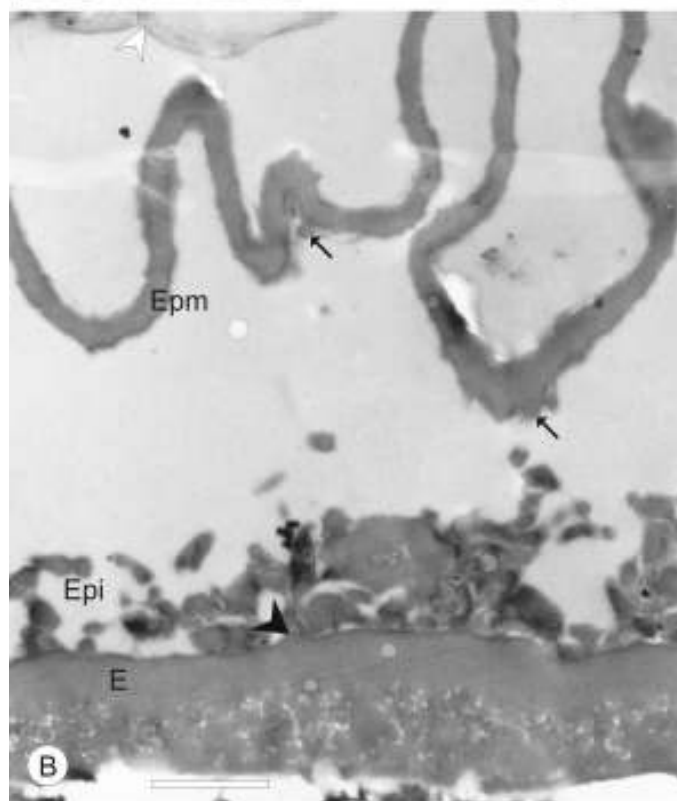


Lámina 40

LÁMINA 40. Microsporas de *Regnellidium diphyllum* Lindm. observadas con MET.  
Ejemplar: *Brauner 135* (SI).

- A- Sección de pared en el área de una lesura. El exosporio (E) se proyecta en la lesura. El episporio en este sector está integrado por la capa interna (Epi, flechas), del cual se observan restos de cordones en continuidad con el episporio medio (Epm), una lámina plegada que conforman la papila. Escala: 3  $\mu$ m.
- B- Sección de pared. El exosporio (E) posee dos niveles, el interno forma la mayor parte del mismo y presenta numerosas cavidades. El externo es de estructura compacta. El episporio interno (Epi) está compuesto por cordones, fusionados al exosporio (punta de flecha) y entre sí. El episporio medio (Epm) está compuesto por una lámina continua plegada, en algunos puntos se observan estructuras de sección circular fusionados a ésta (flechas). Por fuera se observa una capa delgada, lamelar desprendida (punta de flecha blanca). Escala: 1  $\mu$ m.



Lámina 41

LÁMINA 41. Microsporangio y microsporas de *Pilularia americana* A. Braun y esporas de *Regnellidium diphyllum* Lindm. observados con MO.

Figs. A, B: *Pilularia americana* A. Braun

Figs. C – E: *Regnellidium diphyllum* Lindm.

- A- Microsporangio de pared delgada, translúcida, en su interior se observan las microsporas, de color castaño. Escala: 100  $\mu$ m. *Perrone 92* (LP)
- B- Microspora en vista polar proximal, de contorno circular, se observan las lesuras. El exosporio, es castaño más oscuro y el episporio, castaño amarillento. Escala: 50  $\mu$ m. *Perrone 92* (LP)
- C- Megaspora en vista ecuatorial y varias microsporas, la mayoría de éstas se encuentran cerca del polo proximal de la megaspora. Escala: 1 mm. *Brauner 135* (SI).
- D- Microsporas. En la microspora ubicada hacia el centro de la imagen se observa la papila proximal (punta de flecha). El exosporio castaño y en el episporio, más claro, se evidencian pliegues. Se observa un espacio distal en forma de media luna entre exosporio y episporio. Escala: 50  $\mu$ m. *Brauner 135* (SI).
- E- Se observan dos microsporas (flechas), que se distinguen por el contraste de sus exosporios, rodeadas por un mismo episporio. Escala: 50  $\mu$ m. *Brauner 135* (SI).

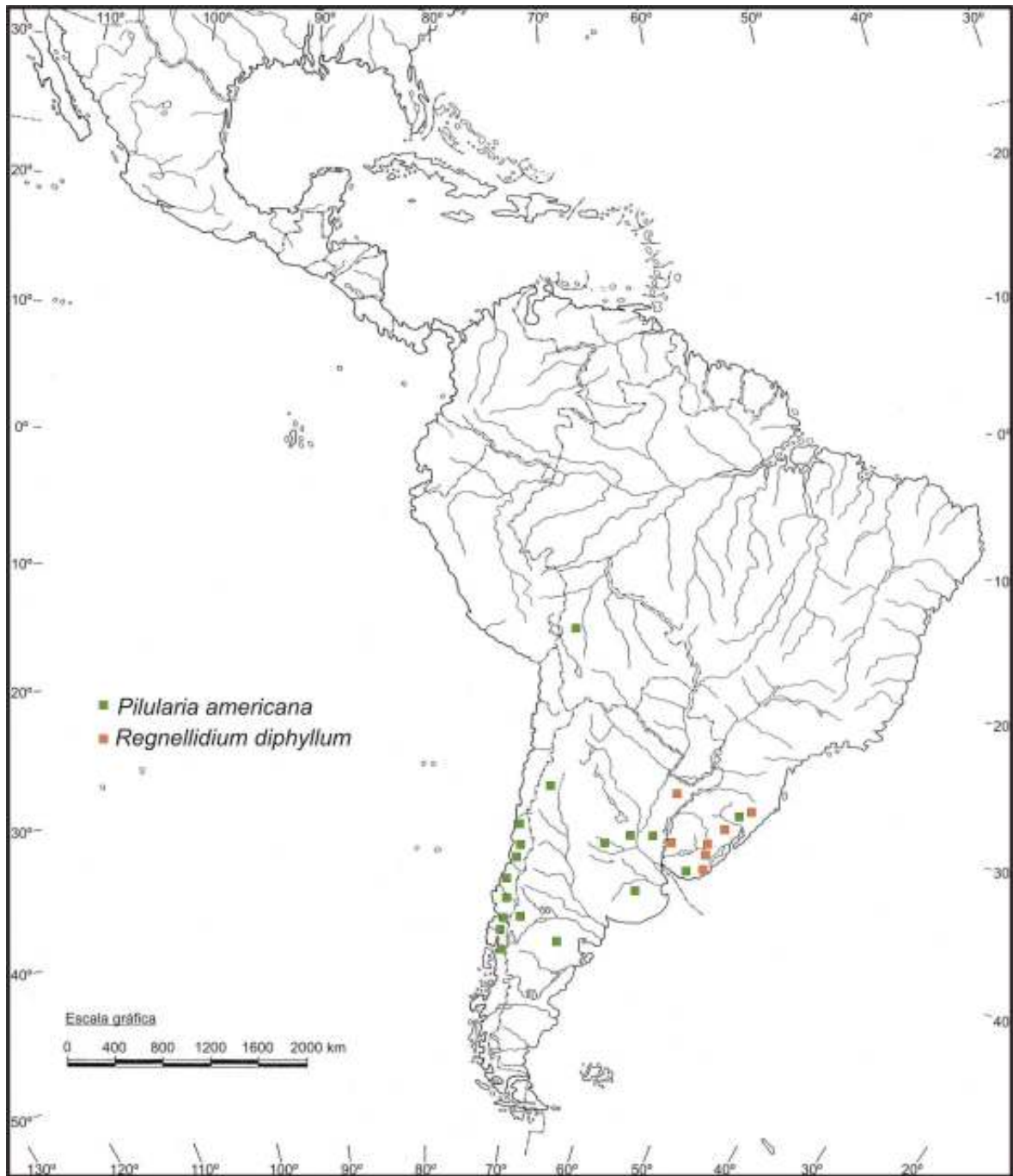


Figura IX. Distribución de *Pilularia americana* y *Regnellidium diphyllum* en el Cono Sur de Sudamérica.



### 3. 3. 9. Discusión

---

Esta familia es la que posee mayor número de representantes en la región y dentro de las Filicophyta heterosporadas es la más rica en especies a nivel mundial. En general se ha priorizado la resolución de problemas taxonómicos o filogenéticos dentro del grupo. La mayoría de los estudios palinológicos existentes han tratado sobre especies de Marsileaceae del Viejo Mundo, aunque existen algunos autores que han llevado a cabo investigaciones relevantes y que permiten la comparación con los resultados obtenidos en este trabajo.

#### *Marsilea*

En las especies de *Marsilea* del Cono Sur se podrían distinguir dos grupos, de acuerdo a la morfología de la estructura proximal de las megasporas. Uno de ellos, integrado por *M. ancylopoda* y *M. mollis* presenta una papila en forma de domo. El segundo grupo se caracteriza por la presencia de un anillo engrosado ubicado hacia la parte media de la papila, observado en *M. crotophora*, *M. deflexa* y *M. polycarpa*. En esta última especie el anillo es doble. La separación de las especies de *Marsilea* en dos grupos coincide con el esquema cladístico basado en caracteres morfológicos y moleculares propuesto por Schneider & Pryer (2002). Estos autores incluyeron en su “Grupo I” a *M. crotophora*, *M. deflexa* y *M. polycarpa* y en el “Grupo II” a *M. ancylopoda* y *M. mollis*. Nagalingum et al. (2007) reevaluaron esta clasificación utilizando datos moleculares y apoyaron la división de las especies de *Marsilea* en los mismos dos grupos. Estos autores mencionaron características morfológicas del esporofito particulares para cada grupo, así como diferencias en la altura de las papilas de las megasporas. En *M. ancylopoda* y *M. mollis* (las cuales incluyeron en el Grupo II) las papilas serían de baja altura. Las especies que incluyeron en su Grupo I (*Marsilea crotophora* y *M. polycarpa*) tendrían en cambio megasporas con papilas ligeramente elevadas por sobre el cuerpo de la espora, más prominentes. *Marsilea deflexa*, no incluida en su estudio, podría asignarse según estos autores, también al Grupo I, en base a características vegetativas.

En varias megasporas de un ejemplar de *M. polycarpa* se observaron cuerpos de 11 – 15 µm de diámetro, en número de tres, sobre la papila proximal. Probablemente serían los miembros abortados de la tétrade. Estas observaciones coinciden con las de Machlis &

Rawitscher-Kunkel (1967) en *M. vestita* y con las de Chrysler & Johnson (1939) realizadas en megasporas de *Regnellidium diphyllum*.

La estructura del exosporio de las megasporas, con dos capas, una interna delgada y una externa con canales en su parte más profunda, observada al MET en *Marsilea mollis*, coincide en general con el tipo “blechnoide” definido por Lugardon & Husson, (1982) para los heterosporados y por Lugardon (1972) para los helechos isosporados. Con frecuencia en las esporas maduras de *Marsilea* no se observan los canales y espacios característicos de la capa externa sino que ésta presenta una estructura compacta y homogénea.

En todas las especies de *Marsilea* estudiadas el episporio, tal como ha sido definido, está compuesto por tres capas. Las capas interna y media están formadas por cordones como elementos estructurales, los cuales se disponen de manera particular en cada una de ellas. La capa externa es delgada, lamelar y constituye la superficie de las megasporas. Pettitt (1971) describió e ilustró con MET la organización del episporio de las megasporas de *Marsilea drummondii* y *M. quadrifolia*, la cual coincide con las observaciones del presente trabajo. La parte interna del episporio ha sido interpretada por Schneider & Pryer (2002) como “granular”, en esporas de *Marsilea drummondii*, aunque esta apariencia se debe, de acuerdo a las observaciones de esta Tesis, a los elementos estructurales de esta capa (cordones) observados en sección. El patrón básico de ornamentación en las microsporas de todas las especies de *Marsilea* es verrucoso – rugulado. Los elementos superficiales pueden variar ligeramente aún entre esporas del mismo esporocarpio. Esta variabilidad en la ornamentación también fue reconocida por Johnson (1986) en todas las especies americanas de *Marsilea*. Este autor consideró que las microsporas no ofrecen caracteres que resulten diagnósticos a nivel específico.

En general los elementos de la ornamentación son más bajos en la cara proximal, como fuera señalado por Pettitt (1966, 1979).

La ultraestructura de la pared de las microsporas de *Marsilea* es semejante en todas las especies estudiadas. Sin embargo, de acuerdo a las observaciones realizadas con MET en *M. ancylopoda* y *M. mollis* se evidenciaron algunas diferencias en las dimensiones y relación entre los componentes del episporio. En el ejemplar examinado de *M. ancylopoda* los pliegues que conforman el episporio interno son más angostos y hay mayor concentración de fibrillas entre estos pliegues. En *M. mollis* los pliegues del episporio son más amplios y bajos

y hay menos fibrillas. Para Lugardon (1996) cuando las microsporas son inmaduras poseen un relieve atenuado. Southworth (1990), refiriéndose a la exina de los granos de polen, mencionó cambios morfológicos que ocurren a la madurez debido a la plasticidad de la pared. El aumento de tamaño del grano determinaría la extensión horizontal de la pared, la disminución de la altura de los elementos de la ornamentación, así como el incremento de la separación espacial entre ellos. Si bien hay diferencias estructurales entre la pared de *Marsilea* y la esporodermis de los granos de polen, podría ocurrir un fenómeno semejante y los cambios en *Marsilea* se deberían a un reacomodamiento del episporio interno.

La red de fibrillas localizadas entre los pliegues del episporio observada en este trabajo fue observada por algunos autores que estudiaron el género previamente. Así, Playford & Dettmann (1996) presentaron fotomicrografías al MET de una microspora de *Marsilea sp.* de Australia donde se evidenciaban estos elementos, e incluso las interpretaron como otra capa del episporio.

La capa externa del episporio de las microsporas, formada por membranas delgadas presenta un contraste y ultraestructura diferente al del resto de la pared. Su origen y desarrollo deberían investigarse en posteriores estudios de esporogénesis. Playford & Dettmann (l.c.) consideraron que esta capa debería considerarse como perisporio.

Los cuerpos esféricos hallados dentro de los microsporangios de *M. deflexa* cuya superficie es similar a la de las microsporas podrían ser glóbulos o microsporas abortadas. Pettitt (1966) describió la presencia de un gran número de microsporas abortadas dentro de los microsporangios de *Marsilea drummondii* y *M. quadrifolia*. Pettitt (1966), citando a Feller (1953) quien estudió las esporas de *Marsilea hirsuta* y a Botteberg (1956) que estudió las esporas de *M. diffusa*, se refirió a varios tipos de esporas abortadas y además a gránulos de material semejante al de la pared de las microsporas que estaba contenido en ampollas provenientes del tapete plasmodial. Pettitt (l.c.) sugirió que estos gránulos podrían ser homólogos de los corpúsculos de Ubisch, descritos por Rowley (1963). Morbelli (1977) observó la presencia de estos corpúsculos en diferentes grupos de Pteridophyta aunque no citó su presencia en Filicophyta heterosporadas. Lugardon (1981) las denominó glóbulos y consideró a estas estructuras como de ocurrencia normal sobre las esporas de las Filicophyta isosporadas, probablemente homólogas a los corpúsculos de Ubisch de las Espermatophyta.

### *Pilularia*

Las megasporas de *Pilularia americana* estudiadas presentan dimensiones semejantes a las descritas para esta misma especie por otros autores (Tryon & Lugardon, 1991; Schneider & Pryer, 2002). Son, sin embargo, significativamente menores a las esporas de esta especie estudiadas por Large & Braggins (1989), en base a material proveniente de América del Norte y Chile. Estos autores señalaron diferencias notables de tamaño entre esporas tomadas de material de herbario y de material vivo. Los ejemplares estudiados para el área del Cono Sur fueron obtenidos de material de herbario, por lo que estas diferencias de diámetro podrían responder a la deshidratación de las esporas.

Las diferencias observadas en la superficie de las megasporas dependerían asimismo del grado de deshidratación. Uno de los ejemplares (*Rambo 7192 PACA*) presenta megasporas con superficie rugulada a verrucosa, mientras que en el resto de los ejemplares analizados ésta es reticulada. Ambos tipos señalados difieren de la ornamentación mencionada por Tryon y Lugardon (1991), quienes la consideraron papilada.

Las diferencias en la morfología de las papilas proximales de las megasporas en los ejemplares de *Pilularia americana* examinados podrían deberse también a distintos estados de hidratación. En el ejemplar *Burkart 26115* (SI) se observó una megaspora cuya papila presenta lomos muy poco marcados, mientras que en otras del mismo ejemplar la papila presenta lomos orientados en forma paralela desde la base de la papila hasta su extremo, o dispuestos espiraladamente. La presencia de estos lomos en papilas de las megasporas observadas en este trabajo así como en las presentadas por otros autores podría indicar una estructura predeterminada que se evidencia sólo en casos de deshidratación. Otros autores (Schneider & Pryer, 2002; Nowak & Lupia, 2004) consideraron sin embargo como carácter diagnóstico del género *Pilularia* la morfología de la papila, estrecha y con lomos paralelos, mientras que los pliegues de la papila proximal dispuestos en espiral se interpretaron como diagnósticos para el género *Regnellidium*.

La estructura de la pared de las megasporas de *Pilularia americana* observada en los ejemplares estudiados es semejante a la presentada por Tryon & Lugardon (1991) para esta especie, sobre ejemplares de América del Norte. De acuerdo a las observaciones de esta Tesis la capa media del episporio presentaría evidencias de estar compuesta por unidades

(cordones) que se fusionan para conformar una superficie más o menos continua. Tryon & Lugardon (l.c.) consideraron que esta capa estaba conformada por una lámina plegada.

Las microsporas de *Pilularia americana* presentan una morfología similar a las de las estudiadas por otros autores (Tryon & Lugardon, 1991; Schneider & Pryer, 2002). No se observó la presencia de una papila proximal en las microsporas, a diferencia de lo señalado por Lupia et al. (2000) para esta especie, basado en material de América del Norte.

La estructura del exosporio en las microsporas coincide en general con el tipo “blechnoide” descrito por Lugardon & Husson (1982) para los helechos heterosporados y por Lugardon (1972) para los isosporados. La presencia de numerosas cavidades en el exosporio no se había mencionado previamente para esta especie; sin embargo este carácter fue señalado por Tralau (1969) para las microsporas de *Pilularia globulifera* de Europa. La estructura del episporio de las microsporas es semejante a la descrita por Tryon & Lugardon (1991) en ejemplares de América del Norte.

### *Regnellidium*

La morfología de las megasporas de *Regnellidium diphyllum* coincide con la forma, dimensiones y características de la superficie con las descripciones de esta especie hechas por Chrysler & Johnson (1939). Estos autores aportaron algunas características estructurales y señalaron que la papila está constituida por la capa media del episporio. Sin embargo en esta Tesis se observó que además intervienen en la constitución de la papila cordones en su superficie interna y una capa externa lamelar.

La estructura y ultraestructura de la pared de las megasporas de *Regnellidium* es congruente con la descrita por Tryon & Lugardon (1991). El episporio está constituido por tres capas, la interna y media conformadas por cordones dispuestos en diferente manera. La capa externa es lamelar y continua. Sin embargo Schneider & Pryer (2002) describieron la estructura del episporio como integrada por dos capas: una interna granular y una externa alveolada. De acuerdo a las observaciones realizadas para el presente trabajo, la apariencia granular del episporio interno se debería a los cordones observados en sección, y los alvéolos mencionados por estos autores serían los espacios delimitados por los tabiques del episporio medio.

Las microsporas de *Regnellidium diphyllum* coinciden en sus características morfológicas (forma, aberturas, superficie) con las observadas por Schneider & Pryer (2002); estos autores describieron la esporodermis como integrada por dos paredes, sin caracterizarlas.

La ultraestructura de la pared de las microsporas de *Regnellidium diphyllum* coincide con la descrita por Pettitt (1966) y Tryon & Lugardon (1991).

La presencia de microsporas con exosporios individuales pero que comparten un mismo episporio en *Marsilea deflexa*, *M. mollis* y *Regnellidium diphyllum*, como fue observado en este estudio, fue también mencionada por otros autores. Chrysler & Johnson (1939) describieron este fenómeno en *Regnellidium* y Pettitt (1966,1979) en *Marsilea*. Este último autor sugirió que la causa sería una falla en la segunda división meiótica, que impediría la separación completa de las microsporas. Stafford (1995) presentó imágenes de pares de microsporas compartiendo el episporio en las especies *Marsilea quadrifolia* y *Pilularia globulifera*, del noroeste de Europa.

La estructura de la esporodermis de microsporas *Pilularia americana* y *Regnellidium diphyllum* estudiadas aquí es semejante a la observada en algunos de los fósiles más antiguos relacionados con esta familia. El episporio con una capa interna compuesta por cordones y una lámina plegada hacia la superficie es comparable a la estructura de las esporas de *Crybelosporites minor* descritas por Li & Batten (1986), provenientes de estratos del Cretácico inferior de China. Éstas presentan un exosporio compacto, por sobre el cual se observan “gránulos”, que podrían ser cordones observados en sección y una lámina delgada, plegada, que conforma la superficie de la espora. Las microsporas de este taxón poseen una papila proximal; a nivel ultraestructural se observa una separación entre el exosporio y la pared externa, semejante a la observada en *Regnellidium*.

## 4. CONCLUSIONES

---

Las Filicophyta heterosporadas constituyen un grupo muy particular dentro de los helechos, debido a la presencia de heterosporía y a su hábitat acuático. De acuerdo a las observaciones realizadas, ambos fenómenos podrían manifestarse en las características de las esporas.

La heterosporía se ve reflejada no solo por la diferencia en dimensiones de los dos tipos de esporas, sino que incluye divergencias en la organización, estructura y ultraestructura de la esporodermis. El análisis de estas particularidades a nivel de cada familia y género se precisa más adelante, en las secciones dedicadas a las respectivas familias.

En el ambiente acuático o semiacuático ocupado por estos helechos, el movimiento en la columna de agua podría provocar el hundimiento de las esporas y representaría una presión ambiental, al menos en ciertas partes del ciclo reproductivo. La presencia de espacios en las paredes de las esporas, conforma un sistema intercomunicado que cumpliría un rol importante durante el desarrollo, en la transferencia de sustancias hacia la espora en formación y además, una función secundaria al incrementar la flotabilidad luego de la liberación de las esporas maduras.

Las esporas de las Filicophyta acuáticas, presentan paredes gruesas en relación al volumen de la espora, resistentes en alto grado a la descomposición. En algunos casos estas esporas tienen la capacidad de permanecer sumergidas por largos períodos en los sedimentos del fondo del cuerpo de agua, protegiendo al joven esporofito hasta que las condiciones son favorables para su crecimiento. En *Azolla* ha sido mencionado desde hace más de un siglo la forma en que los gloquidios de las másulas y los cordones de la superficie del complejo de la megaspora contribuyen a la adherencia de ambas estructuras para facilitar la fertilización. En los otros géneros de Filicophyta heterosporadas serán necesarios estudios del comportamiento de las esporas luego de su liberación, el desarrollo de gametofitos y el rol que desempeñen las características de la organización de las esporas y la esporodermis en encuentro de las gametas.

Por otro lado, el medio acuático proporcionaría la estabilidad hídrica indispensable para desarrollar el ciclo reproductivo sin perturbaciones, por lo que las características de las esporas podrían mantenerse constantes. De acuerdo a las observaciones llevadas a cabo en esta Tesis, los ejemplares de una misma especie colectados en áreas geográficas con



diferente clima o altitud no presentan diferencias significativas en la morfología de sus esporas.

Los caracteres palinológicos podrían resultar diagnósticos a diferentes niveles taxonómicos. Así, las particularidades de la parte proximal de las megasporas permitirían discriminar los taxa a nivel de género. En *Azolla* se diferencian por sobre el polo proximal de la megaspora el collar y la columna, acompañados por flotadores. En *Salvinia* existe una proyección trirradiada interna cubierta por facetas superficiales y en megasporas de *Marsilea*, *Pilularia* y *Regnellidium* la pared se adelgaza en este sector y se proyecta constituyendo una papila, con características diferentes en cada género.

Las estructuras presentes en la parte proximal de las megasporas de *Salvinia* exhiben similitudes con las del género *Azolla*. Así, la proyección trirradiada interna de *Salvinia* sería comparable a la columna de las megasporas de *Azolla* y los engrosamientos en las áreas de contacto entre las expansiones subtriangulares de *Salvinia* podrían asimilarse al collar de *Azolla*. Sin embargo, los flotadores del sistema de las megasporas de *Azolla* no tienen conexión directa con el resto de la esporodermis, sino por medio de cordones, mientras que las expansiones externas de *Salvinia* son parte de la pared misma, de acuerdo a su semejanza con la estructura del episporio en otros sectores de la megaspora. Serán necesarios estudios de desarrollo en ambos géneros para poner a prueba la hipótesis de homología entre ambos conjuntos de estructuras.

La esporodermis de las megasporas ofrece caracteres diagnósticos a nivel de familia para Marsileaceae (hasta género en *Regnellidium*) y hasta género para *Salvinia* y *Azolla*. El exosporio de *Azolla* se distingue por ser lacunoso, mientras que éste es de tipo “blechnoide” (con una capa interna delgada, continua, y una externa, de mayor espesor, con canales radiales en todo su espesor y un estrato profundo con cavidades) en *Salvinia* y en los tres géneros de Marsileaceae.

El episporio es de estructura lacunosa en las megasporas de todas los taxa estudiados. Sin embargo los elementos que conforman esta pared y la forma en que se disponen son diferentes en cada familia. En Azollaceae los elementos estructurales básicos son cordones, unidos entre sí en forma más o menos laxa; en Marsileaceae se encuentran cordones largos y delgados, dispuestos en diferente manera en cada una de las capas que forman esta pared.

Las megasporas de Salviniaceae, en cambio, presentan paredes perforadas, con alvéolos de diámetro variable.

Otro carácter de utilidad diagnóstica a nivel de familia es el modo de dispersión de las microsporas. Las microsporas de la familia Marsileaceae se liberan como mónades, mientras que las microsporas de Azollaceae y Salviniaceae están reunidas en másulas. Las másulas de ambas pueden distinguirse por su forma y por la presencia de gloquidios en la superficie en las de *Azolla*.

La morfología de las microsporas resulta diagnóstica para la familia Marsileaceae. Por otro lado, las microsporas de Azollaceae y Salviniaceae se asemejan en sus dimensiones, en la ornamentación poco marcada y en la estructura del exosporio, de tipo “blechnoide”.

En las microsporas de Marsileaceae se puede reconocer un episporio con dos o tres capas. En Azollaceae y Salviniaceae las microsporas no presentan un episporio identificable. Sin embargo se han observado puntos en donde el exosporio se encuentra soldado a la estructura de la másula en *Azolla*. Observadas al MET el contraste de ambas estructuras es semejante y podría indicar un origen y composición homólogo al de un episporio.

De acuerdo a las similitudes a nivel de megasporas, microsporas y másulas encontradas entre *Azolla* y *Salvinia*, podría considerarse que estos géneros serían más cercanos entre sí que con respecto a Marsileaceae. Los caracteres palinológicos coincidirían entonces con los resultados de análisis filogenéticos previos, donde ambos forman un clado cuyo grupo hermano resulta ser la familia Marsileaceae

### *Azollaceae*

En *Azolla*, como se ha mencionado en el capítulo correspondiente, el pequeño tamaño del esporofito, las semejanzas a nivel vegetativo entre las dos especies estudiadas y la variabilidad de las plantas de acuerdo a las condiciones ambientales dificultan las determinaciones. Las megasporas y másulas ofrecen en cambio varios caracteres que resultan diagnósticos a nivel específico: la ornamentación y estructura de la esporodermis de las megasporas y en menor medida, debido a un cierto grado de variabilidad, las características de los gloquidios.

Las megasporas se diferencian por la superficie, reticulada en *Azolla cristata* y con áreas poligonales separadas por depresiones profundas en *A. filiculoides*. Si bien en *A.*

*cristata* se han observado variaciones en el diámetro y disposición de los elementos que componen el retículo superficial, en todos los casos resultan diferenciables de las megasporas correspondientes a *A. filiculoides*. En *A. cristata* la superficie del complejo de la megaspóra que se encuentra cubierta por cordones es variable en los diferentes ejemplares. Las características de la superficie en ambas especies resultan especialmente importantes ya que son fáciles de apreciar con microscopio binocular a bajo aumento. A nivel de la estructura de la esporodermis las diferencias se localizan en el episporio, con dos capas lacunosas en *A. cristata* y una lacunosa interna y otra compacta externa en *A. filiculoides*.

Los gloquidios de las másulas de *A. filiculoides* son siempre 0-2 septados, mientras que en *A. cristata* se encuentran por lo general de 3-8 septos, si bien se han observado ejemplares sin septos.

Las observaciones realizadas permitieron evidenciar algunos rasgos de la estructura y ultraestructura de la esporodermis de las megasporas que no habían podido resolverse hasta el momento. La presencia de estructuras circulares, observadas al MEB y MET en sección, con un diámetro similar al de los cordones que se observan en la superficie de las megasporas, podría indicar que el origen de estos cordones se encontraría en la parte más profunda de la capa externa del episporio.

La configuración de las estructuras accesorias proximales en las megasporas de *Azolla*, de acuerdo al contraste observado al MET y las semejanzas con la estructura de la pared, sugeriría que la columna y el collar son partes modificadas del episporio de la megaspóra.

La abertura de un canal a lo largo de la columna, tal como se observó con MO en *Azolla cristata*, estaría determinada por lisificación local a lo largo de un trayecto determinado y posterior fusión de estas áreas formando un espacio continuo. Este espacio permitiría el contacto del área proximal de la megaspóra con el exterior en el momento de la germinación. El proceso de germinación de la megaspóra implicaría así, de acuerdo a lo observado hasta el momento: 1) lisis local, 2) fusión de las áreas en un trayecto continuo y 3) comunicación directa del área polar proximal de la megaspóra con el exterior a través del canal. La presencia de este mecanismo de lisificación a lo largo de la columna central en otras especies de *Azolla* debería ser confirmada en estudios futuros.

Las microsporas en ambas especies de *Azolla* son muy semejantes en tamaño, superficie y estructura de la pared. El exosporio es de tipo “blechnoide”, soldado en algunos puntos con la estructura de la másula y con un contraste semejante a ésta al observarse al MET. La continuidad entre el exosporio y la másula y la probable semejanza en su constitución, de acuerdo a la respuesta a las sustancias de contraste, podría ser homóloga a la relación entre el exosporio y el episporio de las megasporas.

### *Salviniaceae*

En *Salvinia* es un hecho relevante la ausencia de esporas en los ejemplares de *Salvinia adnata*; si bien se pueden encontrar ejemplares con esporangios diferenciados en ningún caso estos han alcanzado un desarrollo completo. La presencia de esporangios abortados en las otras especies de *Salvinia* indicaría que las dificultades en la reproducción sexual son frecuentes en este género. En contraposición, la facilidad con que se reproducen por vía vegetativa proporcionaría al grupo una estrategia más eficaz para la rápida colonización cuando el ambiente es favorable.

En esta Tesis se han descrito por primera vez las megasporas, másulas y microsporas de *Salvinia biloba* y *S. minima* y la proyección proximal de las megasporas de *S. auriculata*.

La dificultad para la determinación de las especies en *Salvinia* responde a causas semejantes a aquéllas observadas en *Azolla*: las similitudes en la morfología del esporofito en todos los representantes del género y la plasticidad fenotípica. Las megasporas, sin embargo, aportan caracteres que resultan diagnósticos para *Salvinia minima*, como la ornamentación y la morfología de su proyección proximal.

Las megasporas de *Salvinia auriculata* y *S. biloba* son semejantes en sus dimensiones y su contorno ovoide en vista ecuatorial mientras que las de *S. minima* son de menor tamaño, con un contorno ovoide a romboidal en vista ecuatorial. Las características de la superficie son ligeramente diferentes en las tres especies, si bien ésta es lomada en todos los casos. En *S. minima* los lomos son más bajos y además hay una densidad mayor de perforaciones en el área ecuatorial.

Las megasporas producidas por *Salvinia auriculata* y *S. biloba* poseen una proyección trirradiada central, interna y facetas subtriangulares externas bien desarrolladas. En *S. minima* estos elementos son menos conspicuos y aplanados lateralmente.

La separación de las expansiones proximales observada en las megasporas de *S. biloba*, acompañada por la ruptura de la pared del megasporangio, permitiría la exposición de la estructura central interna y eventualmente, del gametofito, facilitando así la proximidad con los anterozoides.

A nivel de la estructura de la esporodermis, en megasporas no se apreciaron diferencias en el exosporio al observarse con MEB. En *Salvinia biloba*, estudiada con MET, pudo determinarse que éste es de tipo “blechnoide”.

El episporio es semejante en las megasporas de *S. auriculata*, *S. biloba* y *S. minima*. La proyección trirradiada y las facetas proximales, de estructura lacunosa, poseen características semejantes a las de las áreas ecuatoriales y distales de la pared. Tal similitud morfológica y su continuidad con la pared de la megaspora indicarían que éstas se han desarrollado en el mismo plan que el episporio.

No se observaron diferencias en la morfología y estructura de las másulas entre las tres especies estudiadas de *Salvinia*. Asimismo las microsporas poseen características morfológicas y ultraestructurales semejantes. Ninguno de estos caracteres resultaría diagnóstico a nivel específico.

En las microsporas de *Salvinia biloba* observadas al MET se evidenció sobre la superficie del exosporio una capa electrodensa, delgada, continua, formada por fibrillas delicadas. Futuras investigaciones dedicadas al desarrollo de las microsporas podrían revelar la naturaleza de esta capa, su composición química y su origen.

El contraste del exosporio de las microsporas, al ser observado al MET, es similar al de la másula. Por otra parte, la estructura de la másula, con alvéolos de diferentes diámetros, es semejante a la del episporio de las megasporas. La másula podría resultar una estructura homóloga a la del episporio, si bien son necesarios posteriores estudios sobre desarrollo de másulas y microsporas para comprobar si existe tal homología.

En el transcurso de esta investigación se pudo observar la semejanza de megasporas, microsporas y másulas de las especies actuales de *Salvinia* presentes en el Cono Sur con otras especies de *Salvinia* neotropicales y del Viejo Mundo. De la misma manera se observó la semejanza de estas estructuras con las de taxa fósiles asignados a este género desde el Paleoceno. Las similitudes a nivel morfológico y estructural permiten destacar la estabilidad de las características de las esporas de este género a lo largo del tiempo. Asimismo la

conservación de estas estructuras permite suponer que su adquisición ha sido de importancia para la supervivencia y competencia en el medio acuático.

### *Marsileaceae*

Las megasporas de *Marsilea*, *Pilularia* y *Regnellidium* se diferencian por su forma y por las características de sus papilas proximales. *Marsilea* presenta megasporas elipsoidales con papilas de baja altura; en *Pilularia* las megasporas son ovoides, con una papila alargada y en *Regnellidium* las megasporas son subesferoidales, con una papila integrada por segmentos, que se encuentran generalmente plegados, en disposición espiral.

La superficie de las megasporas está determinada por dos factores: 1) el grado de hidratación de la capa lamelar externa de la esporodermis y 2) la estructura de la capa subyacente (episporio medio), compuesta por cordones en todos los casos. En *Marsilea* y *Pilularia* el episporio medio posee tabiques que determinan espacios tubulares o prismáticos, cuyos extremos distales son abiertos. Cuando la capa lamelar externa se encuentra deshidratada, se hunde, quedando ligeramente por debajo del contorno de los extremos de estos espacios. En este caso la superficie se observa como un retículo poco marcado. Cuando la capa externa está completamente hidratada, se eleva ligeramente por sobre los extremos de los espacios y la superficie se observa entonces como rugulada o verrucosa. En *Regnellidium* la capa externa lamelar es de mayor espesor que en los otros géneros y el episporio medio está formado por tabiques que determinan espacios radiales, al igual que en *Marsilea* y *Pilularia*. Sin embargo en este género los extremos de estos espacios se encuentran rematados por un casquete convexo, por lo que la superficie se observa como verrucosa.

A nivel de la ultraestructura de la esporodermis, las megasporas de *Marsilea*, *Pilularia* y *Regnellidium* comparten algunas características. El exosporio es de tipo “blechnoide”, compacto y el episporio está conformado por elementos básicos en forma de cordones. La capa interna del episporio es semejante en los tres géneros estudiados, con cordones que se disponen en forma tangencial a la superficie. La capa media está integrada en *Marsilea*, *Pilularia* y *Regnellidium* por los cordones parcialmente fusionados, formando tabiques. El grado de fusión entre cordones es variable a niveles intra- e interespecíficos, en algunos casos se observen cordones individualizados y en otros casos se fusionan en una

membrana continua, no obstante, son evidentes algunos cordones adheridos en superficie. Hacia su extremo distal los tabiques se fusionan y determinan en *Regnellidium* un casquete, mientras que en *Marsilea* y *Pilularia* los espacios radiales poseen extremos abiertos. La capa externa lamelar es delgada en *Marsilea* y *Pilularia*, mientras que en *Regnellidium* es de mayor espesor y presenta proyecciones y cámaras en los distintos sectores de la megaspora.

Los cordones del episporio, fusionados en mayor o menor medida, al disponerse en distintas orientaciones originan capas de estructura diferente, posiblemente con propiedades mecánicas particulares.

Cuando se observa al MEB en sección, la estructura de las papilas de las megasporas en los tres géneros es comparable a la del episporio de los otros sectores, pero las capas presentan espesores reducidos.

Las características de las microsporas de Marsileaceae resultan diagnósticas a nivel de género al considerarse en conjunto. Así, las microsporas poseen dimensiones similares en los tres géneros, pero las de *Regnellidium* se diferencian por la presencia de una papila proximal y por su ornamentación. Las microsporas de *Marsilea* y *Pilularia* poseen morfología y características superficiales similares, aunque el análisis de su estructura, tal como se observa con MEB o MET, permite diferenciarlas.

El episporio de las microsporas de *Marsilea* presenta dos capas, una interna plegada y una capa externa lamelar más contrastada. En *Pilularia* y *Regnellidium* presenta un patrón similar, compuesto por una capa interna de cordones, una media plegada y la externa delgada, lamelar. En los tres géneros la capa más externa de la pared atenúa el relieve de los pliegues internos.

La participación de los elementos de la capa interna del episporio, además de la capa media en la constitución de la papila de las microsporas de *Regnellidium* ha sido señalada en esta Tesis por primera vez.

En ciertos ejemplares de *Marsilea deflexa*, *M. mollis* y *Regnellidium diphyllum* se han observado, además de las esporas individuales, díades o tríades de microsporas que comparten un mismo episporio. Es probable entonces que las fallas en la meiosis durante la esporogénesis constituyan un fenómeno extendido dentro de la familia. Por otra parte, en vista de las particularidades de la liberación de las microsporas en las otras familias de

Filicophyta heterosporadas, podría tratarse de una tendencia hacia la dispersión agrupada para optimizar el proceso de fertilización. Serán necesarios estudios de desarrollo para esclarecer la formación de estos conjuntos de esporas, así como para evaluar su funcionalidad.

La morfología de las papilas de las megasporas de *Marsilea* posibilitaría una distinción entre dos grupos de especies. El primer grupo estaría caracterizado por papilas en forma de domo, sin anillo y el segundo por la presencia de un anillo engrosado en la papila.

La variabilidad observada en el tipo de elementos que conforman la superficie de las microsporas en *Marsilea* podría responder al estado de desarrollo de la pared. Éste determinaría la presencia o ausencia de la capa lamelar externa, por lo que la ornamentación no sería de utilidad diagnóstica a nivel específico.

En las microsporas de *Marsilea ancylopoda* y *M. mollis* las diferencias mencionadas en la altura y extensión lateral de los pliegues de la capa interna del episporio, así como la variación en la densidad de fibrillas entre los pliegues, podrían corresponder a diferentes grados de maduración de las esporas. Así, al aumentar el volumen de la espora se produciría una distensión de la pared, por lo que los pliegues se extenderían horizontalmente, al mismo tiempo que decrecería su altura. Estos movimientos producirían además el desgarramiento y separación de las delicadas fibras que se encuentran entre ellos, así como la ruptura de la capa lamelar externa. Para poner a prueba esta hipótesis serán necesarios estudios de esporogénesis.

A partir de la comparación de la estructura de mega- y microsporas, se evidencian ciertos patrones dentro de la familia Marsileaceae. El episporio de las megasporas presentaría semejanzas con el de las microsporas de *Pilularia* y *Regnellidium*. En ambos casos hay una capa interna compuesta cordones, una capa media, formada por cordones parcial o totalmente fusionados que determina espacios alargados radialmente y una capa lamelar externa. La similitud en la estructura y el contraste al observarse con MET podrían indicar la homología entre las capas interna y media de los episporios de ambos tipos de esporas. La estructura y el contraste de la capa lamelar, diferentes del resto de la pared, podrían sugerir un origen y composición distinto al del resto del episporio.



La comparación de la estructura de la esporodermis de las microsporas de *Pilularia* y *Regnellidium* con la de esporas fósiles relacionadas con esta familia podría indicar la persistencia de esta organización de la pared desde el Cretácico inferior.

Otro patrón sugestivo es la presencia de estructuras proximales en forma de papila, conformadas por el episporio con espesor reducido en todas las megasporas y en microsporas de *Regnellidium*.

Las Filicophyta acuáticas se han adaptado al su ambiente y han alcanzado su éxito reproductivo mediante estrategias particulares, diferentes a las de otros grupos de plantas presentes en el mismo hábitat. Si bien estas familias no son tan antiguas como otras Filicophyta, ni tan numerosas en géneros y especies, su estudio y conservación podrán aportar conocimientos aplicables en diversos campos.

### **Proyecciones futuras**

El reconocimiento de las características morfológicas, estructurales y ultraestructurales de las esporas de las Filicophyta heterosporadas podría ser de utilidad en otras disciplinas de la Botánica. Los estudios de esporogénesis serían claves para la identificación de homologías a nivel morfológico y ultraestructural, entre mega- y microsporas de una misma especie, así como entre diferentes géneros.

Desde el punto de vista sistemático, los caracteres palinológicos podrían ser de utilidad a diversos niveles jerárquicos.

Asimismo las semejanzas que algunas de las esporas manifiestan con esporas recuperadas de sedimentos a partir del Cretácico permitirían ajustar las asignaciones botánicas de material fósil.

La identificación de esporas relacionadas con Filicophyta heterosporadas proporcionaría elementos para las reconstrucciones paleoambientales, dado el hábitat acuático o semiacuático al que está adaptado el grupo.

El análisis de las características de ambos tipos de esporas, así como su comparación con fósiles relacionados, en un marco filogenético, podrían contribuir a la comprensión de cómo se desarrolló la heterosporia en cada familia.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

---

- Alonso Paz E. & Bassagoda M. J., 2002. Revisión de las Marsileaceae del Uruguay y primera cita de *Pilularia americana*. *Natura*, 1 - 8.
- Andrews H. N., Gensel P. G., Forbes W. H., 1974. An apparently heterosporous plant from the Middle Devonian of New Brunswick. *Palaeontology* 17, 387 – 408.
- Archangelsky A., Phipps C. J., Taylor T. N., Taylor E. L., 1999. *Paleoazolla*, a new heterosporous fern from the Upper Cretaceous of Argentina. *Am. J. Bot.* 86 (8), 1200 - 1206.
- Avetisyan N. M., 1950. Methode simplifiée d'acetolyse dans la préparation de pollens. *Bot. Zurn. (Moscow & Leningrad)* 35, 385 – 386.
- Bateman R. M., 1991. Palaeobiological and phylogenetic implications of anatomically-preserved archaeocalamites from the Dinatian of Oxroad Bay and Loch Humphrey Burn, southern Scotland. *Palaeontographica B* 233, 1 – 58.
- \_\_\_\_\_, DiMichele W. A., 1994. Heterospory: the most iterative key innovation in the evolutionary history of the plant kingdom. *Biol. Rev.* 69, 345 – 417.
- Batten D. J., Collinson M.E., 2001. Revision of species of *Minerisporites*, *Azolla* and associated plant microfossils from deposits of the Upper Palaeocene and Palaeocene/Eocene transition in the Netherlands, Belgium and the USA. *Rev. Palaeobot. Paynol.* 115, 1 – 32.
- Baxter R. W., 1964. The megagametophyte and microsporangia of *Calamocarpon insignis*. *Phytomorphology* 14, 481 – 487.
- Bonnet A. L. M., 1955. Contribution à l'étude des Hydroptéridées: II. Recherches sur *Salvinia auriculata* Aubl. *Ann. Sci. Nat., Bot.* 16, 529 – 600.
- \_\_\_\_\_, 1956. Contribution à l'étude des Hydroptéridées: IV. Commentaires et conclusions générales. *Naturalia Monspeliensia, Sér. Bot.* 8, 37 - 104.
- \_\_\_\_\_, 1957. Contribution à l'étude des Hydroptéridées: recherches sur *Azolla filiculoides* Lamk. *Rev. Cytol. et Biol. Végét.* 18 (1), 1 - 88.
- Burkart A., 1933. Observaciones sobre Pteridofitas platenses. *Physis* 11 (39), 253 - 265.
- Cabrera A. L., Zardini E. M., 1979. Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires. Ed. ACME. Buenos Aires.

- Cichan M. A., Taylor T. N., Brauer D. F., 1984. Ultrastructural studies of *in situ* Devonian spores: *Protobarinophyton pennsylvanicum* Brauer. *Rev. Palaeob. Palyn.* 41, 167 – 175.
- Collinson M. E., 1980. A new multiple-floated *Azolla* from the Eocene of Britain with a brief review of the genus. *Palaeontology* 23, 213 – 229.
- \_\_\_\_\_, 1991. Diversification of modern heterosporous pteridophytes. *En: Pollen and spores. Patterns of diversification.* (Ed. Blackmore S., Barnes S. H.) *Syst. Assoc. Sp. Vol.* 44, 119 – 150.
- Chaloner W. G., Pettitt J. M., 1987. The inevitable seed. *Bull. Soc. Bot. France* 134, 39 – 49.
- Chrysler M. A., Johnson D. S., 1939. Spore production in *Regnellidium*. *Bull. Torrey Bot. Club* 66 (5), 263 - 269.
- Di Fulvio T. E., 1956. Observaciones morfológicas y taxonómicas sobre las especies de *Azolla* del centro de Argentina. *Rev. Fac. Cienc. Exac., Fís. y Nat Córdoba* 18 (3 - 4), 337 - 354.
- \_\_\_\_\_, 1961. Sobre el episporio de las especies americanas de *Azolla* con especial referencia a *A. mexicana* Presl. *Kurtziana* 1, 299 - 302.
- Duckett J. G., 1970. Sexual behaviour of the genus *Equisetum*, subgenus *Equisetum*. *Bot. J. Linn. Soc.* 63, 327 – 352.
- \_\_\_\_\_, Pang W. C., 1984. The origins of heterospory: a comparative study of sexual behaviour in the fern *Platyzoma microphyllum* R. Br. and the horsetail *Equisetum giganteum* L. *Bot. J. Linn. Soc.* 88, 11 – 34.
- Dunham D. G., Fowler K., 1987. Taxonomy and species recognition in *Azolla* Lam. *En: Azolla* utilization. International Rice Research Institute, Manila. Pág. 7–16
- Erdtman G., 1943. An introduction to Pollen Analysis. Waltham Mass.
- \_\_\_\_\_, 1946. Pollen morphology/Plant taxonomy. VII. On pollen and spore formulae. *Svensk Bot. Tidskr.* 40, 70 – 76.
- \_\_\_\_\_, 1947. Suggestions for the classification of fossil and recent pollen grains and spores. *Svensk Bot. Tidskr.* 41, 104 – 114.
- \_\_\_\_\_, 1952. Pollen morphology/Plant taxonomy. Angiosperms. Stockholm: Almqvist and Wiksell.

- \_\_\_\_\_, Sorsa P., 1971. Pollen and spore morphology / Plant taxonomy. Pteridophyta. Stockholm: Almqvist & Wiksell.
- Estrelles E., Ibaris A. M., Herrero-Borgonón J. J., 2001. Situación de las poblaciones valencianas del género *Marsilea*: medidas para su conservación. *Botanica Complutensis* 25, 241-249.
- Evrard C., Van Hove C., 2004. Taxonomy of the American *Azolla* species (Azollaceae): A critical review. *Syst. Geogr. Plants* 74, 301 – 318.
- Forno I. W., 1983. Native distribution of the *Salvinia auriculata* complex and keys to species identification. *Aquatic Botany* 17, 71 – 83.
- Fowler K., 1975. Megaspores and massulae of *Azolla prisca* from the Oligocene of the Isle of Wight. *Palaentology* 18 (3), 483 – 507.
- \_\_\_\_\_, Stennett-Wilsson J., 1978. Sporoderm architecture in modern *Azolla*. *Fern Gazette* 11 (6), 405 - 412.
- Friis E. M., 1977. EM-studies on Salviniaceae megaspores from the Middle Miocene FASTERHOLT flora, Denmark. *Grana* 16, 113 – 128.
- Gardenal P., Morbelli M. A., Giudice G. E., 2005. Morfología y ultraestructura de las esporas de las Filicophyta heterosporadas del Noroeste de Argentina. *Bol. Soc. Arg. Bot.*, 40, Supl. XXX Jornadas Argentinas de Botánica. Rosario. P.186.
- \_\_\_\_\_, 2006. Análisis palinológico de las especies de *Salvinia* Ség. que crecen en Sudamérica austral. *Resúmenes XIII Simposio Argentino de Paleobotánica y Palinología*. P. 119.
- \_\_\_\_\_, 2007. Morphology and ultrastructure of heterosporous Filicophyta spores from north-west Argentina. *Grana* 46, 65 - 77.
- \_\_\_\_\_, 2008. Spore morphology and ultrastructure in species of *Salvinia* from southern South America. *Palynology* 32, 143–156
- Godfrey R. K., Reinert G. W., Houk R. D., 1961. Observations on microsporocarpic material of *Azolla caroliniana*. *Am. Fern J.* 51, 89 – 92.
- Good C. W., 1975. Pennsylvanian-age calamitean cones, elater-bearing spores, and associated vegetative organs. *Palaeontographica B* 153, 28 – 99.
- Hall J. W., 1968. A new genus of Salviniaceae and a new species of *Azolla* from the Late Cretaceous. *Am. Fern J.* 58 (2), 77 - 88.

- \_\_\_\_\_, 1974. Cretaceous Salviniaceae. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 61 (2), 354 - 367.
- Hasebe M., Wolf P. G., Pryer K. M., Ueda K., Ito M., Sano R., Gastony G. J., et al. 1995. Fern phylogeny based on rbcL nucleotide sequences. *Am. Fern J.* 85, 134 - 181.
- Hemsley A. R., 1993. A review of Palaeozoic seed-megaspores. *Palaeontographica B* 229, 135 – 166.
- Holmgren P. K., Holmgren N. H., Barnett L. C., 1990. Index Herbariorum. Part I: The Herbaria of the World. New York Botanical Garden.
- Hossain M. (1971). Spore-bearing structures in *Salvinia nymphellula* Desv. (Salviniaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 64, 141-148.
- Iversen J, Troels-Smith J., 1950. Pollenmorphologische Definitionen und Typen. *Danm. Geol. Unders, ser. 4.3 (8)*, 1 – 54.
- Jain R. K., Hall J. W., 1969. A contribution to the Early Tertiary fossil record of the Salviniaceae. *Amer. J. Bot.* 56 (5), 527 - 539.
- Johnson D. M., 1986. Systematics of the New World species of *Marsilea*. *Syst. Bot. Monogr.* 11, 1 – 87.
- Kramer, K. U., Green P. S. (eds. Vol.). 1990. Pteridophytes and Gymnosperms. *En: Kubitzki K. (Ed.). Families and Genera of Vascular Plants I.* Spriger-Verlag, Berlin.
- Large M. F., Braggins J. E., 1989. An assessment of characters of taxonomic significance in the genus *Pilularia* (Marsiliaceae): with particular reference to *P. americana*, *P. novae-hollandiae*, and *P. novae-zelandiae*. *New Zeland J. Bot.* 27, 481 – 486.
- Legrand D., Lombardo A., 1958. Flora del Uruguay. I, Pteridophyta. Museo Nacional de Historia Natural, Montevideo.
- Li W. B., Batten D. J., 1986. The early Cretaceous megaspore *Arcellites* and closely associated *Crybelosporites* microspores from northeast inner Mongolia, P. R. China. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 46: 189-208.
- Lugardon B., 1972. La structure fine de l'exospore et de la périspore des Filicinées isosporées. I, Généralités Eusporangiées et Osmundales. *Pollen et spores* 14 (3), 227 - 261.
- \_\_\_\_\_, 1974. La structure fine de l'exospore et de la périspore des Filicinées isosporées. II, Filicales. Commentaires. *Pollen et spores* 16 (2), 161 – 226.

- \_\_\_\_\_, 1981. Les globules des Filicinées, homologues des corps d'Ubisch des Spermaphytes. *Pollen et Spores* 33 (1), 93 – 124.
- \_\_\_\_\_, 1996. Morphologie sporale et ultrastructure du sporoderme chez les Filicinées. *Memorie della Accademia Lunigianese di Scienze "Giovanni Capellini"* 46, 15 - 43.
- \_\_\_\_\_, Husson P., 1982. Ultrastructure exosporale et caractères généraux du sporoderme dans les microspores et les mégaspores des Hydroptéridées. *C. R. Acad. Sc. Paris* 294, 789-794.
- Lupia R., Schneider H., Moeser G. M., Pryer K. M., Crane P. R., 2000. Marsileaceae sporocarps and spores from the Late Cretaceous of Georgia, U.S.A. *Int. J. Plant Sci.* 161 (6), 975 - 988.
- Machlis L., Rawitscher-Kunkel E. 1967. The hydrated megaspore of *Marsilea vestita*. *Am. J. Bot.* 54 (6), 689 – 694.
- Martin A. R. H., 1976a. Some structures in *Azolla* megaspores, and an anomalous form. *Rev. Palaeob. Palyn.* 21, 141 - 169.
- \_\_\_\_\_, 1976b. Upper Palaeocene Salviniaceae from the Woolwich/Reading beds near Cobham, Kent. *Palaeontology* 19 (1), 173 - 184.
- Mettenius G., 1847. Ueber *Azolla*. *Linnaea* 20, 259 – 282.
- Metzgar J. S., Schneider H, Pryer K. M., 2007. Phylogeny and divergence time estimates for the fern genus *Azolla* (Salviniaceae). *Int. J. Plant Sci.* 168 (7), 1045 -1053.
- Mitchell D. S., Thomas P. A., 1972. Ecology of waterweeds in the Neotropics. *UNESCO Technical Papers in Hydrology*, 12.
- Morbelli M. A., 1977. Presencia de corpúsculos de Ubisch en las esporas de las Pteridofitas. *Obra del Centenario del Museo de La Plata, Secc. Bot.* 237 - 247.
- \_\_\_\_\_, 1980. Morfología de las esporas de Pteridophyta presentes en la región fuego-patagónica, República Argentina. *Opera Lilloana*, 28, 1–138.
- Moore A. W., 1969. *Azolla*: biology and agronomic significance. *Bot. Rev.* 35, 17 - 34.
- Nagalingum N. S., Schneider H., Pryer K. M., 2007. Molecular phylogenetic relationships and morphological evolution in the heterosporous fern genus *Marsilea*. *Syst. Bot.* 32 (1), 16 - 25.

- Nasu T., Seto K., 1976. Fossil macrospores and massulae of *Salvinia natans* from the Pliocene and the Quaternary sediments in the Kinki and Tokai districts, Japan. *Bull. Osaka Mus. Nat. Hist.* 30, 37 – 48.
- Nowak M. D., Lupia R., 2004. *Arcellites stellatus* new species, a new megaspore from the Lower Cretaceous of Maryland, USA. *J. Paleontol.* 78, 1207 – 1213.
- Perkins, S. K., Peters, G. A., Lumpkin, T. A., Calvert, H. E., 1985. Scanning electron microscopy of perine architecture as a taxonomic tool in the genus *Azolla* Lamark. *Scan. Electron Microsc.* 4, 1719–1734.
- Pettitt J. M., 1965. Two heterosporous plants from the Upper Devonian of North America. *Bull. Br. Mus. (Nat. His.) Geol.* 10, 81 – 92.
- \_\_\_\_\_, 1966. Exine structure in some fossil and recent spores and pollen as revealed by light and electron microscopy. *Bull. Br. Mus. (Nat. His.) Geol.* 13 (4), 221 - 257.
- \_\_\_\_\_, 1971. Some structural aspects of sporoderm formation in pteridophytes. *En: Erdtman G., Sorsa P. (Ed.) Pollen and spore morphology (Plant taxonomy, Pteridophyta)*. Pp. 227 - 251. Almquist & Wiksell, Stockholm.
- \_\_\_\_\_, 1979. Ultrastructure and cytochemistry of spore wall morphogenesis. *En: Dyer A. F. (Ed.) The experimental biology of ferns*. Pp. 213 – 252. Academic Press. London.
- Phillips T. L., 1979. Reproduction of heterosporous arborescent lycopods in the Mississippian-Pennsylvanian of Euramerica. *Rev. Palaeob. Palynol.* 27, 239 – 289.
- Playford G., Dettmann M. E., 1996. Chapter 8, Spores. *En: Jansonius J. & McGregor D. C. (ed.) Palynology: principles and applications*. Am. Assoc. of Stratigraphic Palynologists Foundation, I. pp. 227 - 260.
- Ponce M. M., 1996. Pteridophyta. *En: Zuloaga F. O. y Morrone O. (Ed.). Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina I. Monogr. Sist. Bot. Miss. Bot. Gard.* 60. St. Louis (MO), pp. 1-79.
- Potonié R., 1934. Zur Morphologie der fossilen Pollen und Sporen. *Arb. Inst. Paläobotanik Petrographie Brennsteine* 4, 5 – 24.
- \_\_\_\_\_, Kremp G. O. W., 1955. Die Sporae dispersae des Ruhrkarbons, ihre Morphographie und Stratigraphie mit Ausblicken auf Arten anderer Gebiete und Zeitabschnitte. *Palaeontographica* 98, 1 – 136.

- Praglowksi J. & Punt W., 1973. An elucidation of the micro-reticulote structure of the exine. *Grana* 13, 45 - 50.
- Pryer K. M., 1999. Phylogeny of Marsileaceae ferns and relationships of the fossil *Hydropteris pinnata* reconsidered. *Int. J. Plant Sci.* 160 (5), 931 - 954.
- \_\_\_\_\_, Smith A. R., Skog J. E., 1995. Phylogenetic relations of extant ferns based on evidence from morphology and rbcL sequences. *Am. Fern J.* 85 (4), 205 -282.
- Rothwell G. W., Stockey R. A., 1994. The role of *Hydropteris pinnata* gen. et sp. nov. in reconstructing the cladistics of heterosporous ferns. *Am. J. Bot.* 81, 479 - 492.
- Rowley J. R. 1963. Ubisch body development in *Poa annua*. *Grana Palynol.* 4, 25 - 36.
- \_\_\_\_\_, Nilsson S., 1972. Structural stabilization for electron microscopy of pollen from herbarium specimens. *Grana* 12, 23 – 30.
- Russow E., 1874. Vergleichende Untersuchungen betreffend die Histologie (Histographie und Histogenie) der vegetativen und sporenbildenden Organe und die Entwicklung der Sporen der Leitbündel-Kryptogamen, mit Berücksichtigung der Histologie der Phanerogamen ausgehend von der Betrachtung der Marsiliaceen. *Mém. Acad. Sci. Pétersb* 7, sér. 19,1.
- Schedlbauer M. D., 1976. Fern gametophyte development: controls of dimorphism in *Ceratopteris thalictroides*. *Am. J. Bot.* 63, 1080 – 1087.
- Schneider H., Pryer K. M., 2002. Structure and function of spores in the aquatic heterosporous fern family Marsileaceae. *Int. J. Plant Sci.* 163, 485 – 505.
- Saunders R. M. K., Fowler K., 1993. The supraspecific taxonomy and evolution of the fern genus *Azolla* (Azollaceae). *Plant Syst. Evol.* 184, 175 - 193.
- Sota E. R. de la, 1962 a. Contribución al conocimiento de las Salviniaceae neotropicales I. *Salvinia oblongifolia* Mart. *Darwiniana* 12 (4), 612 – 623.
- \_\_\_\_\_, 1962 b. Contribución al conocimiento de las Salviniaceae neotropicales II. *Salvinia auriculata* Aubl. *Darwiniana* 12 (3), 499-513.
- \_\_\_\_\_, 1962 c. Contribución al conocimiento de las Salviniaceae neotropicales III. *Salvinia herzogii* nov. spec. *Darwiniana* 12 (3), 514-520
- \_\_\_\_\_, 1963. Contribución al conocimiento de las Salviniaceae neotropicales IV. Datos morfoanatómicos sobre *Salvinia rotundifolia* Willd. y *S. herzogii* de la Sota. *Darwiniana* 12 (4), 612-623.



- \_\_\_\_\_, 1973. La distribución geográfica de las Pteridofitas en el Cono Sur de América Meridional. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 15 (1), 23-34.
- \_\_\_\_\_, 1976. Especies argentinas del género *Salvinia* Adanson (Salviniaceae-Pteridophyta). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 27, 47–50.
- \_\_\_\_\_, 1985. Las Pteridofitas de la provincia de La Pampa, Argentina. *Rev. Facult. Agron. Univ. Nacl. La Pampa* 1, 23–34.
- \_\_\_\_\_, 1995. Nuevos sinónimos en *Salvinia* Ség. (Salviniaceae, Pteridophyta). *Darwiniana* 33, 309-313.
- \_\_\_\_\_, 2001. Sobre el tipo de *Salvinia adnata* (Salviniaceae, Pteridophyta). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 36 (1 – 2), 125 – 129.
- \_\_\_\_\_, Ponce M. M., Morbelli M. A., Cassa de Pazos L., 1998. Pteridophyta. *En:* Correa M. N. (Ed.) Flora Patagónica. Pp. 282 – 369. Col. Cient. INTA. Buenos Aires.
- Southworth D., 1990. Exine biochemistry. *En:* Blackmore S., Knox R. B. (ed.), Microspores: evolution and ontogeny, pp. 193 - 212.
- Spurr A. R., 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastr. Res.* 26, 31 – 43.
- Stafford P. J., 1995. Marsileaceae. *En:* The Northwest European Pollen Flora (52). *Rev. Palaeob. Palyn.* 88, 3 - 24.
- \_\_\_\_\_, 2003. Salviniaceae. *En:* The Northwest European Pollen Flora (59). *Rev. Palaeob. Palyn.* 123, 19 – 25.
- Strasburger E., 1873. Ueber *Azolla*. Iena: H. Dabis Edit.
- Sweet A. R., Hills L. V., 1971. A study of *Azolla pinnata* R. Brown. *Am. Fern Journal* 61, 1 - 13
- \_\_\_\_\_, Chandrasekharam A., 1973. Vegetative remains of *Azolla schopfii* Dijkstra from Genesee, Alberta. *Can. J. Bot.* 51, 1491 - 1496.
- Taylor, W.A., 1993. Megaspore wall ultrastructure in *Isoetes*. *Am. J. Bot.* 80 (2), 165–171.
- Tralau H., 1969. The morphology of microspores of *Pilularia globulifera*. *Grana* 9, 118 - 123.
- Tryon A. F., 1961. Some new aspects of the fern *Platyzoma microphyllum*. *Rhodora* 63, 91 – 102.

- \_\_\_\_\_, 1964. *Platyzoma*-A Queensland fern with incipient heterospory. *Am. J. Bot.* 51 (9), 939 – 942.
- Tryon R. N., Lugardon B., 1991. Spores of the Pteridophyta. Surface, wall structure and diversity based on electron microscope studies. Springer-Verlag. New York
- \_\_\_\_\_, Tryon A. F., 1982. Ferns and allied plants with special reference to tropical America. Springer-Verlag. New York
- Van Campo M., 1971. Précisions nouvelles sur les structures comparées des pollens de Gymnospermes et d'Angiospermes. *C. R. Acad. Sci. Paris* 272, 2071 - 2074.
- Wodehouse R. P., 1935. Pollen grains. Their structure, identification and significance in science and medicine. McGraw-Hill, New York.
- Zetsche F., Vicari H., 1931. Untersuchungen über die Membran der Sporen und Pollen III. 2. *Picea orientalis* (L.) Link, *Pinus silvestris* L., *Corylus avellana* L. *Helv. Chim. Acta* 14, 62 – 67.

## GLOSARIO

---

Este Glosario reúne algunos de los términos utilizados en la presente Tesis; incluye vocablos generales aplicados en descripciones palinológicas, así como algunos utilizados específicamente para tratar las esporas de las Filicophyta heterosporadas.

A continuación de la mayoría de los términos se incluye la cita del autor o autores que los acuñaron o precisaron su definición.

**Abertura:** (Erdtman, 1947; Lugardon, 1972). Es una región diferenciada del exosporio, adelgazada, por donde se produce la germinación de la espora. En las Filicophyta la abertura es de posición proximal.

**Acetorresistente:** cualidad de una sustancia o estructura de resistir la degradación ocasionada por el tratamiento de acetólisis.

**Acrolamela:** (Li & Batten, 1986). Es un tipo especial de gula, con segmentos en forma de láminas. El término se utilizó principalmente para referirse a esporas fósiles. Recientemente fue adoptado por Schneider & Pryer (2002) y Lupia et al. (2000) para describir la proyección proximal en esporas de Marsileaceae y por Nowak & Lupia (2004) para megasporas de Marsileaceae y Salviniaceae.

**Bácula** (sing. baculum): (Potonié, 1934). Elemento presente en la superficie de la espora, alargado en sentido radial, de forma cilíndrica, de más de 1  $\mu\text{m}$  de longitud y de anchura menor que esta medida.

**Blechnoide:** (Lugardon, 1972). Tipo de exosporio que comprende dos capas, una interna delgada y otra externa de mayor espesor que posee un estrato profundo fisurado, con numerosos canales y cavidades.

**Capa:** (Lugardon, 1972). Parte de una pared que se distingue por caracteres morfológicos o estructurales particulares.

**Cara distal:** (Erdtman, 1952). Parte de la espora ubicada hacia afuera de la tétrade durante su formación.

**Cara proximal:** (Erdtman, 1952). Parte de la espora ubicada hacia el centro de la tétrade durante su formación, en contacto con las otras esporas. En las Pteridophytitas es la cara sobre la que se encuentran las lesuras.

**Clavas:** (Iversen & Troels-Smith, 1950). Elementos superficiales de más de 1  $\mu\text{m}$ , alargados en sentido radial, con un ápice engrosado con respecto a su base.

**Collar:** (Sweet & Hills, 1971). Engrosamiento presente en las megasporas de *Azolla*, que delimita la periferia de la espora en su parte proximal.

**Columna:** Proyección proximal de la esporodermis de las megasporas de *Azolla* de forma más o menos cónica, de posición central. En las especies estudiadas está rodeada por los tres flotadores.

**Díade:** Conjunto de dos microsporas que se dispersan como una unidad.

**Ecuador:** (Wodehouse, 1935). Es la zona entre las caras proximal y distal de una espora.

**Eje polar:** (Wodehouse, 1935). Es el eje que conecta ambos polos.

**Episporio:** (Russow, 1872). Pared ubicada por fuera del exosporio, en esporas de Filicophyta heterosporadas. Según Lugardon & Husson (1982), su formación es posterior a la del exosporio y todas las capas que integran el episporio se forman simultáneamente.

**Esporocarpo:** estructura de diverso origen y consistencia que encierra los soros en los helechos acuáticos heterosporados.

**Esporodermis:** (Lugardon, 1972). Conjunto de paredes que rodean el contenido celular de una espora.

**Esporopolenina:** (Zetsche & Vicari, 1931). Biopolímero acetorresistente que compone las paredes de las esporas.

**Estrato:** (Lugardon, 1972). Parte de una capa que presenta características morfológicas, morfogenéticas, físicas o químicas que la diferencian de otras partes de la capa considerada.

**Exosporio:** (Lugardon, 1972). Pared más interna de las esporas, acetorresistente, continua en toda la periferia de la espora, sobre la cual se localiza la abertura en la cara proximal.

**Flotadores:** Estructuras accesorias de la megaspora de *Azolla*, de estructura lacunosa, que se disponen alrededor de la columna central.

**Glóbulo:** (Lugardon, 1981). Elemento presente en la superficie de las esporas de helechos, de forma esférica y diámetro variable, con una composición semejante a la de la parte externa del exosporio. Son homólogos de los corpúsculos de Ubisch descritos en Angiospermas (Rowley, 1963) y en Filicophyta (Morbelli, 1977).

**Gloquidios:** (Strasburger, 1873). Son proyecciones que se encuentran sobre la superficie de las másulas de *Azolla*. En las especies estudiadas constan de un cuerpo tubular, con o sin septos transversales, y de un extremo distal con forma de ancla.

**Gula:** (Potonié & Kremp, 1955). Es una extensión de la cara proximal de una megaspora, con forma de cuello. Generalmente el término se aplica para megasporas fósiles.

**Heterosporía:** producción de dos tipos de esporas, cada una de las cuales puede dar origen a un gametofito dioico. En general, además de la diferenciación fisiológica de ambos tipos de esporas, el término se refiere a la producción de esporas de diferentes dimensiones. Se suelen emplear los 200 µm como límite arbitrario para el empleo del término megaspora.

**Lacunoso:** Estructura de tipo alveolar, con numerosos espacios. Se adoptó para evitar la confusión con el término alveolar, utilizado por Van Campo (1971) para caracterizar la pared de las Gimnospermas.

**Lesura:** (Erdtman, 1946). Cada una de las ramas de la abertura de las esporas de las Pteridofitas, ubicada en el polo proximal.

**Lumen:** (Potonié, 1934). Espacio determinado por los muros de un retículo.

**Másulas:** (Mettenius, 1847) Cuerpo de estructura lacunosa en el que se encuentran reunidas las microsporas en los géneros *Azolla* y *Salvinia*.

**Megaspora:** Tipo de espora que al germinar origina un gametofito femenino solamente. En el caso de esporas pertenecientes a taxa fósiles, donde no pueden seguirse las etapas del desarrollo se determinan arbitrariamente como megasporas aquéllas que superan los 200 µm en su eje mayor.

**Microspora:** Tipo de esporas que al germinar originan solamente gametofitos masculinos.

**Pared:** (Lugardon, 1972). Cada uno de los elementos que componen la esporodermis. Cada pared posee características propias que permiten diferenciarlas de las demás. En las Filicophyta heterosporadas se distinguen dos paredes acetoresistentes: exosporio y episporio.

**Pila** (sing. pilum): (Erdtman, 1952). Elemento presente en la superficie de una espora, alargado en sentido radial, compuesto por una parte inferior cilíndrica y un extremo expandido, de forma globosa.

**Polo:** (Wodehouse, 1935). Cada uno de los extremos del eje polar de la espora.

**Proximal:** (Jackson, 1928). Término aplicado a los caracteres referidos a la cara proximal de la espora.

**Retículo** (pl. reticula): (Pragłowski & Punt, 1973). Tipo de ornamentación conformado por muros unidos en un diseño en forma de red, entre los cuales quedan determinados lúmenes de más de 1  $\mu\text{m}$  de diámetro.

**Rugulado:** (Iversen & Troels-Smith, 1950). Tipo de ornamentación conformada por rúgulas, elementos alargados, cuya dimensión mayor es paralela a la superficie, de más de 1  $\mu\text{m}$ , dispuestos en forma desordenada.

**Trilete:** (Erdtman, 1943). Tipo de abertura que posee tres lesuras.

**Verruga:** (Iversen & Troels-Smith, 1950). Elemento presente en la superficie de la espora, de más de 1  $\mu\text{m}$  de anchura, más ancho que alto y no constreñido en su base.