

**Gonzalo Javier Marquez**

**ESTUDIOS MORFOLÓGICOS Y ULTRAESTRUCTURALES  
EN ESPORAS DE CYATHEACEAE DEL CONO SUR.**

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

**Directora: Prof. Dra. Marta Alicia Morbelli**

**Co-Directora: Dra Gabriela Elena Giudice**

**La Plata**

**2008**

## INDICE

### 1. RESUMEN/ABSTRACT

### 2. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

2. 1. Presentación del tema

2. 2. Antecedentes y marco sistemático

2. 3. Trabajos florísticos en el área

2. 4. Estudios palinológicos en la familia

2. 5. Hipótesis y objetivos

2. 5. 1. Hipótesis general

2. 5. 2. Hipótesis particulares

2. 5. 3. Objetivo general

2. 5. 4. Objetivos particulares

### 3. MATERIALES Y METODOS

3. 1. Material utilizado

3. 2. Viajes de campo

3. 3. Aspectos nomenclaturales

3. 4. Métodos experimentales

3. 5. Descripción del esporofito.

3. 6. Terminología utilizada en la descripción del material palinológico

3. 7. Material de herbario estudiado

### 4. RESULTADOS

4. 1. *Alsophila*

4. 1. 1. Morfología general de las esporas del género; descripción del esporofito, distribución geográfica y morfología de las esporas de cada especie.

- *Alsophila capensis*
- *Alsophila odonelliana*
- *Alsophila setosa*
- *Alsophila sternbergii*

#### 4. 1. 2. Ultraestructura

#### 4. 1. 3. Discusión

### 4. 2. *Cyathea*

4. 2. 1. Morfología general de las esporas del género; descripción del esporofito, distribución geográfica y morfología de las esporas de cada especie.

- *Cyathea atrovirens*
- *Cyathea corcovadensis*
- *Cyathea delgadii*
- *Cyathea hirsuta*
- *Cyathea leucofolis*
- *Cyathea phalerata*
- *Cyathea villosa*

#### 4. 2. 2. Ultraestructura

#### 4. 2. 3. Discusión

### 4. 3. *Sphaeropteris*

4. 3. 1. Morfología general de las esporas del género; descripción del esporofito, distribución geográfica y morfología de las esporas de la especie.

- *Sphaeropteris gardneri*

#### 4. 3. 2. Ultraestructura

#### 4. 3. 3. Discusión

## 5. CONCLUSIONES GENERALES

6. BIBLIOGRAFIA

7. AGRADECIMIENTOS

## 1. RESUMEN

Se estudió la morfología y la ultraestructura de las esporas de las Cyatheaceae del Cono Sur (Argentina, Chile, Paraguay, Uruguay y los tres estados del sur de Brasil). Para realizar este trabajo se utilizó material de herbario y fresco, coleccionado en viajes de campo. Se usaron diversas técnicas de fijación y tinciones diferenciales y las observaciones se realizaron con microscopio óptico y electrónico de barrido y de transmisión.

Las Cyatheaceae que crecen en el área de estudio corresponden a tres géneros, que pueden ser diferenciados por la morfología de las escamas de la base del pecíolo. En base a observaciones propias en el campo, la consulta de herbarios y la revisión bibliográfica, se pudo determinar la presencia de 7 especies de *Cyathea*, 4 de *Alsophila* y 1 de *Sphaeropteris*. Se actualizó la distribución de los taxa y se excluyó del área en estudio a *Alsophila cuspidata*, previamente citada por otros autores.

Como características generales las esporas son triletes, triangulares en vista polar, con los lados rectos a cóncavos y los ángulos redondeados. En vista ecuatorial son plano-hemisféricas, convexo-hemisféricas o cónico-subcónicas. En todos los casos el exosporio presenta dos capas, una interna delgada y una externa más gruesa, menos electrodensa, con margen entero o perforado y canales y cavidades. El perisporio tiene dos capas que varían, según el género, en grosor, ornamentación estratificación y estructura.

Las esporas de *Cyathea* se caracterizan por presentar un perisporio delgado, castaño oscuro al microscopio óptico, formado por una red tridimensional de cordones con los extremos distales libres o unidos formando espínulas. En secciones delgadas de la esporodermis observadas con microscopio electrónico de transmisión se diferencian dos capas en el perisporio, la interna con dos estratos y la externa delgada y uniestratificada.

El exosporio al microscopio óptico es grueso, amarillo y la superficie, según la especie, es psilada, perforada o verrucosa.

El perisporio de *Alsophila* es castaño oscuro al microscopio óptico y la ornamentación compuesta por lomos de superficie lisa o crestada, esta última de diversas características. Sobre la superficie se observan glóbulos. A nivel ultraestructural presenta dos capas, la interna con tres estratos y la externa uniestratificada. El exosporio al microscopio óptico es amarillo a castaño claro y psilado.

*Sphaeropteris* tiene un perisporio castaño oscuro al microscopio óptico, la ornamentación se caracteriza por la presencia de lomos de margen equinado. Se observan además glóbulos de distinto tamaño sobre la superficie. La estratificación de la pared es similar a la de *Alsophila*, aunque con diferencias ornamentales y ultraestructurales en la capa externa del perisporio. El exosporio es castaño claro al microscopio óptico y la superficie es psilada.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo reflejan la homogeneidad palinológica para cada género. Se aportan características palinológicas superficiales y estructurales que permiten la diferenciación a nivel específico. Asimismo, se pone de manifiesto que la superficie y ultraestructura de las esporas de las Cyatheaceae del área podrían reflejar las tendencias evolutivas de la Familia y aportarían datos que avalan las hipótesis filogenéticas recientes.

Los resultados obtenidos del análisis de la ultraestructura y subestructura de la pared de las esporas, como la presencia de superficies aplanadas y glóbulos superficiales, cordones con una subestructura compleja dispuestos de diferente manera en cada estrato del perisporio y canales en el perisporio y exosporio, ponen en evidencia la complejidad de la esporodermis. Tal complejidad estaría relacionada con la función que cumple la

pared durante la diferenciación de las esporas en formación, la protección y dispersión de las esporas maduras y el mecanismo de abertura durante la germinación.

Las descripciones morfológicas, basadas en diferentes metodologías utilizadas al trabajar en material, vivo o de herbario, brindan importante información a la botánica morfológica interpretativa y aportan datos a otras disciplinas afines, como ser el mejoramiento de las afinidades botánicas en paleobotánica.

## ABSTRACT

The spore morphology and wall ultrastructure of the Cyatheaceae species from the South Cone (Argentina, Chile, Paraguay, Uruguay and three states of South Brazil) were studied. The study was based on herbarium specimens and fresh material, collected in field trips. Several techniques of fixation and differential stains were applied and the observations were performed with light microscope, scanning and transmission electron microscopes.

The Cyatheaceae that grow in the area of study belong to three genera, which are differentiated by the morphology of the scales of the petiole bases. Based on observations in the field, herbaria and literature consulted, the presence of seven species of *Cyathea*, four species of *Alsophila* and one species of *Sphaeropteris* was certified. The geographical distribution of the taxa was up dated and *Alsophila cuspidata*, which was formerly quoted by other authors, was excluded from the area of study.

As general characteristics the spores of these taxa are trilete, triangular in polar view, with straight to concave sides and rounded angles. In equatorial view the shape is plane-hemispheric, convex-hemispheric or conic-subconic. In all the taxa the exospore has two layers: an inner layer thin and an outer layer thick and less electrodense than the inner one, with channels and cavities and a smooth or perforate margin. The perispore is two-layered and varies in thickness, ornamentation, stratification and structure in each genus.

The spores of *Cyathea* species are characterized for having a thin, dark brown perispore under the light microscope, formed of threads with distal ends free or fused forming echinulae. The threads are interwoven forming a three-dimensional mesh. In thin sections of the perispore observed with transmission electron microscope two layers are evident: an inner layer with two strata and an outer layer thin and single-

stratified. The exospore with light microscope is thick, yellow and with psilate, perforate or verrucose surface, according to the species.

The perispore of *Alsophila* species is dark brown with light microscope and forms the ornamentation that is composed of ridges with smooth or cristate surface, in the last case the characteristics are diverse. At ultrastructural level the perispore has two layers: an inner layer with three strata and an outer layer single-stratified. Globules are seen on the surface. The exospore is yellow to light brown with light microscope and psilate.

The perispore in *Sphaeropteris* is dark brown with light microscope and the ornamentation is characterized by ridges with echinate margin. The perispore stratification is similar to that of *Alsophila*, although differences in ornamentation and ultrastructure of the outer perispore layer were found. Globules of variable size are observed on the surface. The exospore is light brown when observed with light microscope and its surface is psilate.

The results obtained in this study have shown that there is a palynological homogeneity in each genus. Characteristics of the spore surface and structure are given that allow the differentiation at specific level. Likewise, is pointed that the spore surface and ultrastructure of the Cyatheaceae of the studied area would probably show evolutive tendencies in the Family and provide data that probably support the recent phylogenetic hypothesis.

The analysis of the spore wall ultrastructure and substructure shown that some characteristics like the presence of sheath-like surfaces and globules on the perispore surface, threads with a complex sub-structure, differently oriented in each perispore stratum and the presence of channels in the perispore and exospore, make evident the sporoderm complexity in the Cyatheaceae. Such complexity would probably be related

to the process of spore formation and differentiation, the protoplast protection, dispersion and the mechanism of aperture during germination.

Description of the spore morphology and wall ultrastructure based on information obtained with different methodologies on living and herbarium material, provided information of relevance to the morphological interpretative botany and supplied data to other related subjects like Paleobotany for a better approach to the knowledge of the botanical affinities.

## 2. INTRODUCCIÓN

## 2. 1. Presentación del tema

La familia Cyatheaceae (Pteridophyta) comprende el grupo más diverso de los helechos arborescentes. Se distribuyen en el neotrópico y el paleotrópico, encontrando en el continente americano su límite de distribución austral en el Sur de Brasil y Norte de Argentina y Uruguay. Los ambientes de mayor diversificación son las selvas montanas húmedas y las selvas nubladas (Tryon & Tryon, 1982). Sus representantes se diferencian de los otros helechos arborescentes por la posición abaxial de los soros (en el resto los soros son marginales) y la presencia de escamas en la base de los pecíolos. Representa uno de los grupos de helechos más vulnerables y protegidos en Sudamérica, a pesar de lo cual la información relacionada con él está dispersa y desactualizada, siendo especialmente escasa la referida a la parte reproductiva.

El área de estudio seleccionada es el “Cono Sur de América Meridional” según lo propuesto por de la Sota (1973) y comprende Argentina, Chile, Uruguay, Paraguay y los estados de Rio Grande do Sul, Santa Catarina y Parana, pertenecientes a Brasil.

Hasta el momento, se han citado 18 especies de Cyatheaceae (Fernandes, 1997; Ponce et al., 2005):

*Alsophila capensis* (L. F.) J. Sm. subsp. *polypodioides* (Sw.) D. S. Conant, *A. cuspidata* (Kunze) D. S. Conant, *A. incana* (H. Karst.) D. S. Conant, *A. setosa* Kaulf., *A. sternbergii* (Pohl ex Sternb.) D. S. Conant, *Cyathea acantha* (Sehnem) M. Lehnert, *C. atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domin, *C. axillaris* (Raddi) Lellinger, *C. corcovadensis* (Raddi) Domin, *C. delgadii* Sternb., *C. dichromatolepis* (Fée) Domin, *C. hirsuta* Presl., *C. microdonta* (Desv.) Domin, *C. phalerata* Mart., *C. poeppigii* (Hook.) Domin, *C. pungens* (Willd.) Domin, *C. villosa* Willd. y *Sphaeropteris gardneri* (Hook.) Tryon.

Los trabajos más comunes encontrados en la bibliografía se relacionan con el reconocimiento de nuevas especies, citas en listados florísticos y algunos estudios

ecológicos. Recientemente se han realizado dos tesis donde se hicieron revisiones sistemáticas de la familia para las especies que se encuentran en el sur de Brasil (Fernandes, 1997) y Bolivia (Lehnert, 2006b).

En relación con la parte reproductiva se han realizado estudios de germinación en algunas especies brasileras y se han mencionado y descrito las esporas de Cyatheaceae en listados actuopalinológicos, aeropalinológicos y paleopalinológicos. En el área en estudio encontramos solamente el trabajo de Lorscheitter *et al.* (1999), quienes han estudiado con microscopio electrónico de barrido, las esporas de la Familia en el Estado de Rio Grande do Sul, Brasil.

De esta manera es necesario contar con estudios palinológicos completos del material de la región utilizando microscopios de alta tecnología, que posteriormente podrán ser comparados con los obtenidos en otras partes del mundo. Los resultados alcanzados podrán ser de gran utilidad en variadas disciplinas, entre las que se pueden citar la sistemática, paleontología y conservación.

## 2. 2. Antecedentes y marco sistemático

La delimitación de los géneros y familias ha sido un problema persistente en la taxonomía de los helechos, y las Cyatheaceae no escapan a esta regla (Lellinger, 1987).

Las antiguas clasificaciones, como las de Mettenius (1856), Chirst (1897), Diels (1899), Christensen (1905-06) y Bower (1926), adoptaron géneros artificiales principalmente basándose en las características de los esporangios e indusios (Fernandes, 1997).

Si bien Copeland (1947) y DeWolf (1953) comenzaron a percatarse de la importancia de las escamas en la clasificación del grupo, no es hasta 1961 en que Holttum & Sen, considerando material del Viejo Mundo, proveen la primer clasificación moderna de la Familia. Esta se basa en las características de las escamas de la base de los pecíolos y el desarrollo de los indusios. De esta manera, y coincidiendo con los trabajos de Mettenius (*l. c.*), Diels (*l. c.*) y Goebel (1915-18), se incluye dentro de las Cyatheaceae a *Dicksonia* y sus grupos emparentados. La Familia es dividida en diversas Subfamilias, entre ellas las Cyatheaideae, donde se encuentran incluida la Tribu Cyathea, que cuenta con dos géneros: *Cyathea sensu lato* (incluyendo a *Alsophila*, *Hemitelia*, *Gymnosphaera* y *Schizocaena*) y *Cnemidaria*, separadas por la división de la lámina, el tipo de venación y la morfología de sus esporas.

Años después, Holttum (1963, 1965) presenta una nueva subdivisión del género *Cyathea s. l.*, donde incluye los dos subgéneros *Cyathea* y *Sphaeropteris*.

En 1970, Tryon presenta una nueva clasificación donde, siguiendo a Bower (*l. c.*) y Copeland (*l. c.*), segrega a *Dicksonia* de la familia en base a la posición marginal de los soros. Este autor incluye 8 géneros, integrando la información de las especies del Viejo Mundo con las americanas. Tryon (*l. c.*) reconoce tres grupos definidos de géneros, que reflejarían las líneas evolutivas básicas de Ciateaceas escamosas: el género

*Sphaeropteris*, con escamas conformes en la base de los pecíolos; *Alsophila* y *Nephelea*, con escamas marginadas y seta apical nigrescente y *Trichipteris* (*sensu* Tryon), *Cyathea* y *Cnemidaria*, con escamas marginadas y sin seta apical. El carácter más importante de esta clasificación es la forma de las escamas de la base del pecíolo. También incluye dentro de la Familia Cyatheaceae a *Lophosoria* y *Metaxia*, considerados estos dos géneros más primitivos que el resto.

Más tarde, y basándose en la clasificación de Tryon (1970), diferentes autores han realizado las revisiones de los géneros *Sphaeropteris* (Tryon, 1971), *Nephelea* (Gastony, 1973), *Cnemidaria* (Stolze, 1974), *Cyathea* (Tryon, 1976), *Sphaeropteris* (Windisch, 1977), *Trichipteris* (Barrington, 1978) y *Alsophila*, incluyendo *Nephelea* (Conant, 1983).

Pichi Sermolli (1977) incluyó dentro de las Cyatheaceae a los seis géneros de helechos arborescentes escamosos de la clasificación de Tryon (1970), a la cual considera muy satisfactoria, salvo en lo que respecta a *Lophosoria* y *Metaxia*. Estos dos géneros son ubicados en familias monotípicas en base a las características anatómicas estudiadas, siguiendo los trabajos de Lucansky (1974a; 1974b) y Lucansky & White (1974). Las Cyatheaceae se encontrarían dentro del Suborden Cyatheineae del orden de las Dicksoniales pertenecientes a la Subclase Hymenophyllidae.

En 1982, Tryon & Tryon reformulan la clasificación de Tryon (1970) e incluyen dentro de las Cyatheaceae solamente a los seis géneros escamosos. Relacionaron a *Sphaeropteris* subg. *Sphaeropteris* (grupo *S. horrida*) con los géneros *Alsophila* y *Nephelea* por presentar seta apical en las escamas de la base del pecíolo; y a *Sphaeropteris* subg. *Sclephoropteris* (grupo *S. aterrима*) con los géneros *Trichipteris*, *Cyathea sensu* Tryon y *Cnemidaria* por mostrar el ápice de dichas escamas indiferenciado. En este trabajo, siguiendo a Pichi Sermolli (1977), los autores dejan

fuera de la Familia a *Lophosoria* y *Metaxia*, incluyéndolas en las familias monotípicas Lophosoriaceae y Metaxiaceae respectivamente e incluyeron a las Cyatheaceae en el Orden Polypodiales, Suborden Polypodiineae.

Analizando la ontogenia de los indusios, Holttum (1981; 1983) criticó la clasificación propuesta por Tryon & Tryon (1982). Opinó que ésta última toma como primitivo la ausencia de indusio y relaciona a las Cyatheaceae con las Gleicheniaceae. Holttum (*l. c.*) afirmó que el indusio primitivo es el hemitelioide, homólogo al del género *Dicksonia*. En base a estos caracteres, propone una nueva clasificación, que mantiene dentro de las Cyatheaceae a *Dicksonia* y los géneros emparentados y al género inclusivo *Cyathea s. l.*

Lellinger (1987), basándose en Tryon (1970), encontró posible definir cuatro géneros fácilmente reconocibles y coherentes. Ellos son, *Cyathea* (*Cyathea sensu* Tryon, *Trichopteris* y las especies americanas de *Sphaeropteris*, salvo las pertenecientes al grupo *S. horrida*), *Alsophila* (incluyendo *Nephelea*), *Cnemidaria* y *Sphaeropteris* (incluyendo las especies del Viejo Mundo y el grupo *S. horrida* del Nuevo Mundo). Sin embargo, Kramer (1990) encuentra más convincente la clasificación propuesta por Holttum en 1983.

Varios autores (Conant *et al.*, 1994; 1995; 1996; Korall *et al.*, 2006; 2007; Schuettpelz & Pryer, 2007) realizaron una serie de trabajos en base a datos morfológicos del esporofito y moleculares de ADN de cloroplastos, que pusieron en evidencia la existencia de tres líneas evolutivas principales dentro de la Familia Cyatheaceae. Concluyeron que, de los tres sistemas de clasificación modernos (Tryon, 1982; Holttum, 1983; Lellinger, 1987), el más coherente con los resultados de sus trabajos es el de Lellinger.

### 2. 3. Trabajos florísticos en el área

El estudio de estos helechos fue abordado en distintas Floras regionales, entre las que se pueden mencionar las de Paraguay (Hassler, 1928), Uruguay (Legrand & Lombardo, 1958), la Provincia de Jujuy en Argentina (Sota de la, 1977) y Estado de Santa Catarina en Brasil (Sehnem, 1978). Los taxa de esta familia presentes en la zona a estudiar han sido citados en los trabajos florísticos de Daviña *et al.* (1999), Peña-Chocarro *et al.* (1999), Fernández (2003), Biganzoli & Múlgura de Romero (2004) y Lehnert (2006b).

Fernandes (1997) realizó una revisión sistemática y fitogeográfica para las especies de Cyatheaceae y Dicksoniaceae que habitan el sur de Brasil, sin describir las esporas.

Entre los numerosos trabajos donde se dan a conocer nuevas especies de Cyatheaceae en América (Moran, 1991; Arens & Smith, 1998; Murillo & Murillo, 2003; Lehnert, 2003; 2006a;) se encuentra el de Lehnert (2005). En este último se reconsidera el nombre *Alsophila odonelliana* para el sur de Bolivia y norte de Argentina, manteniendo el epíteto *A. incana* para Colombia, Ecuador y Perú.

Existen trabajos de este grupo de helechos que mencionan, características particulares sobre anatomía del esporofito (Tardieu-Blot, 1941; Holttum, 1957; Conant, 1975; Lukansky, 1976; 1977; 1985), estudios biogeográficos (Tryon & Gastony, 1975; Moran & Smith, 2001; León, 2006) y aspectos ecológicos (Conant & Cooper-Driver, 1980; Tanner, 1983; Ash, 1986; Arens & Baracaldo, 1998; Cortez, 2001; Schmitt & Windisch, 2003; 2005; 2006; 2007; Jones *et al.* 2007; Mehlreter & García-Franco, 2008), algunos de los cuales incluyen especies tratadas en esta tesis.

## 2. 4. Estudios palinológicos en la familia

Bower (1935) considera que los helechos pueden ser divididos en dos grandes grupos en base a la presencia o ausencia de perisporio e incluyó dentro de este último grupo a las Cyatheaceae.

Años más tarde Harris (1955), en su trabajo sobre las esporas de Nueva Zelanda, puso en evidencia que la presencia o ausencia de perisporio estaría relacionada con los distintos estadios de desarrollo. En este caso utilizó a *Alsophila smithii* (bajo *Hemitelia smithii*) como ejemplo. Describió a las esporas del género *Cyathea s. l.* como tetraédricas, triletes, triangulares en vista polar, con lados cóncavos y distintos tipos de ornamentación (granular, escabrada o lisa).

Holttum & Sen (1961) definieron que el número usual de esporas por esporangio en las Cyatheaceae es 64 y las definen como triletes, con pared delgada de grosor uniforme y exosporio liso o papiloso.

Nayar *et al.* (1964) y Tardieu-Blot (1966) describieron, utilizando microscopio óptico, las esporas de algunas especies de Cyatheaceae de África y encontraron cierta variabilidad en la ornamentación.

En 1971 Erdtman & Sorsa, utilizando microscopio óptico (MO) y electrónico de barrido (MEB), describieron a las esporas de esta familia como triletes y comentaron que algunas carecían de perisporio y, en las que lo poseían, el mismo podía ser plegado, espinado o granulado. En este trabajo se describieron las esporas de *A. capensis* (bajo *Cyathea capensis*) y *A. setosa* (bajo *Cyathea beyrichiana*) con perisporio plegado y se ilustraron con MEB las de *C. corcovadensis* (bajo *Trichopteris corcovadensis*), con un perisporio delgado, formado por un retículo incompleto

Lugardon, tanto en su tesis de doctorado (1971) como en su trabajo sobre estructura de la pared de las esporas de las Filicineas isosporadas (1974), describió el exosporio de

las Cyatheaceae como “blechnoide”. Este se caracteriza por estar constituido por dos capas, una interna delgada y una externa más gruesa que presenta un estrato interno denominado “estrato fisurado”, formado por canales y cavidades más evidentes a la altura de la lesura. El perisporio a su vez está compuesto por dos capas, la superficial homogénea y la profunda compuesta por tres estratos formados por una sustancia grumosa. Los trabajos se basaron en material de las especies *Sphaeropteris medullaris* y *S. cooperi* (bajo *Cyathea*).

Tryon (1971) describió las esporas del grupo *Sphaeropteris horrida* como tetraédrico-globosas, marrones, delicadas y caracterizadas por presentar lomos bajos con agudas prominencias.

Las esporas de *Alsophila* fueron descritas por Gastony (1973), quien observa la similitud entre las esporas de esta especie con las de *Nephelea* y las describe tetraédrico-globosas, con exosporio psilado y perisporio con lomos.

Murillo & Bless (1974) en su trabajo sobre esporas de Colombia, presentan descripciones al MO de la familia, resaltando la importancia que tienen los helechos arborescentes en la palinología histórica. Algunas de las especies mencionadas en este trabajo se encuentran representadas en el área de estudio de esta tesis, siendo descritas de la siguiente manera: *A. cuspidata* (bajo *C. cuspidata*) con perisporio estriado, *C. villosa* (bajo *A. villosa*) con exosporio liso y sin perisporio, *C. delgadii* con perisporio irregularmente ondulado, que da a la espora un aspecto reticulado, verrucado o estriado.

Más tarde Gastony (1974) propuso una variación al método clásico de acetólisis (Erdtman, 1960), con el cual separa al exosporio del perisporio, pero sin destruir este último. Utilizándolo, puso de manifiesto la presencia de un verdadero perisporio, que constituye la escultura de las esporas de las Cyatheaceae y definió dos grandes grupos según la presencia (*Metaxia*, las especies Paleotropicales y algunas Neotropicales de

*Sphaeropteris*, *Alsophila*, *Nephelea*, algunas especies de *Trichipteris* y *Cyathea*) o ausencia (*Lophosoria*, *Cnemidaria*, algunas especies Neotropicales de *Sphaeropteris*, algunas especies de *Trichipteris* y *Cyathea*) del mismo. Gastony (*l. c.*) realizó además estudios sobre el número de esporas por esporangio y observó dos grandes grupos: el constituido por *Alsophila* y *Nephelea* con 16 esporas por esporangio y gran cantidad de esporangios por soro (más de 100), y el formado por *Cyathea*, *Trichipteris*, *Cnemidaria*, *Sphaeropteris*, *Metaxia* y *Lophosoria*, con 64 esporas por esporangio y baja cantidad de esporangios (menos de 100) por soro. En relación a este último tema, observó que los esporangios son caducos, su tamaño se correlaciona con la cantidad de esporas que producen y retienen gran parte de las esporas en su interior una vez escindidos del esporofito. Teniendo en cuenta estas últimas características, el autor propuso que los esporangios podrían ser las unidades de dispersión dentro de esta familia.

Barth (1975), en un estudio aeropalinológico de la atmósfera de Río de Janeiro, encontró esporas de *Cyathea phalerata* (como *Alsophila*), a las que caracterizó por tener una superficie pilosa, y esporas de *C. delgadii* (bajo *C. schanschin*), con verrugas grandes.

Gastony & Tryon (1976) describieron las esporas de los géneros *Lophosoria*, *Metaxia*, *Sphaeropteris*, *Alsophila* y *Nephelea*. En *Sphaeropteris*, la ornamentación de las especies Paleotropicales y el grupo neotropical de *S. horrida* se caracteriza por presentar proyecciones puntiagudas que estarían formadas por el perisporio; el exosporio es liso. Las esporas de las especies del grupo de *Sphaeropteris aterrима* tienen una superficie compuesta por procesos similares a pelos y el exosporio presenta distintos tipos de escultura. Las esporas de la mayoría de las especies de *Alsophila* presentan una superficie formada por lomos y el exosporio sin escultura. *Nephelea* tiene el perisporio y el exosporio muy similar al de la mayoría de las especies de *Alsophila*.

Los autores ponen de manifiesto el problema de identificar el grado de madurez de las esporas para realizar descripciones más exactas. Concluyen que los patrones morfológicos de las esporas son consistentes con la clasificación propuesta por Tryon en 1970. Entre las especies estudiadas se incluye a *A. capensis* y *S. gardnerii*.

En su trabajo sobre el estudio con MEB de las esporas de las Cyatheaceae de Taiwán, Liew & Wuang (1976) identificaron dos tipos de ornamentación: estriada (con lomos), donde incluyen cuatro especies de *Alsophila*; y espinulosa, donde incluyen dos especies de *Alsophila* y una de *Sphaeropteris*. Los autores propusieron una clave para diferenciar las especies presentes en Formosa (Taiwán) en base a la ornamentación de las esporas.

Tryon (1976) describió el exosporio de *Cyathea* (*sensu* Tryon) como tuberculado, verrucado o finamente perforado. Según el autor el perisporio puede estar ausente, formado por cuerpos esferoidales o compuesto por una red densa de varillas delicadas, las cuales estarían constituidas por material esferoidal fusionado. El autor incluye comentarios sobre *Cyahtea delgadii*.

En 1978 Barington, en su revisión del género *Trichipteris*, observó que los esporangios del género portan 32 o 64 esporas. Estas esporas se caracterizan por poseer un exosporio psilado y un perisporio cubierto por “numerous minute cilia more or less developed into a dense tomentum”. En este trabajo se incluyeron fotografías al MEB de *Cyathea* (*Trichipteris*) *villosa*.

Más tarde, Gastony (1979) estudió las esporas de *Trichipteris* y describió un perisporio formado por una red de delgados filamentos entrelazados, con los extremos libres. Según este autor el exosporio tiene una gran variación morfológica, pudiendo ser liso o verrucoso y presentar o no perforaciones o depresiones circulares parecidas a cráteres. Las perforaciones se presentan en uno o ambos polos de la espora aunque, en

todas las especies, se presentan orificios diferenciados a lo largo de la lesura. El autor concluyó que la morfología del perisporio y exosporio ponen en evidencia las íntimas relaciones entre *Trichipteris*, *Cyathea* y el grupo *Sphaeropteris aterrима*. En este trabajo se encuentran descripciones, bajo el género *Trichipteris*, de las siguientes especies presentes en el Cono Sur: *C. villosa*, *C. atrovirens*, *C. phalerata*, *C. corcovadensis*, *C. axilaris* (bajo *T. leucolepis*) y *C. hirsuta*.

Tryon & Tryon (1982) realizaron un exhaustivo trabajo sobre los helechos y grupos emparentados de América tropical y en él incluyeron descripciones de las esporas de las Cyatheaceae. En *Sphaeropteris* observaron tres tipos de esporas: uno con exosporio liso, rugoso o verrucoso, perforado o no, cubierto por un perisporio formado por cordones mas o menos conectados; el segundo tipo con un exosporio foraminado y cubierto por un perisporio granulado; el tercer tipo con un perisporio equinado, este último característico del grupo *S. horrida*. Las esporas de *Alsophila* y *Nephelea* se caracterizan por la presencia de lomos con diferentes morfologías y mayoritariamente incluyen 16 esporas por esporangio. *Trichipteris* y *Cyathea* presentan exosporio liso, verrucoso o con verrugas foraminadas, cubiertas por un perisporio formado por cordones, por un depósito granulado o carecen de perisporio. Los autores ponen énfasis en las similitudes entre las esporas de *Trichipteris* y *Cyathea* con las de un grupo de *Sphaeropteris*, carácter que pondría en evidencia las relaciones filogenéticas del grupo. En este trabajo se presentan observaciones de esporas de *Nephelea* (*Alsophila*) *cuspidata*, *Trichipteris* (*Cyathea*) *corcovadensis* y *Cyathea delgadii*.

Conant (1983) incluyó dentro de *Alsophila* a *Nephelea sensu* Tryon del Nuevo Mundo y a *Cyathea* subg. *Alsophila sensu* Holttum del Viejo Mundo y describió las esporas como triletes, con un patrón reticulado. El autor consideró que las

características de las esporas y el número de esporas por esporangio, son caracteres importantes para justificar la unificación.

Esteves & Felipe (1985) realizaron ensayos de germinación y describieron las esporas de *Cyathea corcovadensis* (bajo *Trichipteris*). Los autores observaron dos formas extremas de esporas: unas con lados rectos y otras con lados cóncavos, existiendo especímenes con estadios intermedios. Los autores vincularon los distintos tipos de morfologías con los diferentes estadios de desarrollo en que se encontraba cada espécimen estudiado.

Alice Tryon (1985; 1990) en sus trabajos sobre la importancia evolutiva de las esporas de los helechos y grupos emparentados, colocó a las Cyathaceae entre las Pteridophyta que poseen una estructura de la pared especializada y las incluyó entre las esporas que tienen un perisporio de moderado a bien desarrollado.

Lellinger (1987) comentó que las esporas del grupo *Sphaeropteris horrida*, son únicas entre las Cyatheaceae del Nuevo Mundo y están cubiertas por proyecciones planas. Según este autor *Alsophila* (incluyendo *Nephelea*) se caracteriza por un perisporio con lomos y *Cyathea* (incluyendo *Trichopteris*) presenta esporas cubiertas por procesos parecidos a pelos o por un depósito granular.

Braggins & Large (1990) describieron con MO y MEB las esporas de *Cyathea* (*sensu* Holttum) de Nueva Zelanda. En este trabajo se hace referencia a la importancia de la morfología de las esporas en la clasificación sistemática de las Cyatheaceae.

En 1991, Tryon y Lugardon, dentro de su trabajo sobre las esporas de Pteridophyta, describieron e ilustraron con microscopía electrónica de barrido y transmisión las esporas de las Cyatheaceae. Para los autores, *Sphaeropteris* presenta dos tipos: el subg. *Sphaeropteris* presenta esporas con exosporio generalmente liso y perisporio complejo con tres capas. El subg. *Sclephropteris* se caracteriza por un exosporio perforado y un

perisporio formado por varillas. *Alsophila* y *Nephelea* presentan una superficie con lomos de distinto tamaño, aunque en algunos casos se observan varillas entrelazadas. A nivel estructural el exosporio está formado por dos capas y el perisporio es complejo, con tres capas. *Trichipteris* y *Cyathea* presentan una superficie lisa o verrucosa cubierta por varillas o un depósito granular. Los autores observan un exosporio con dos capas, la externa usualmente perforada, y un perisporio delgado formado por dos capas. Estos autores ilustran algunos de los taxa citados para el área de estudio (*Alsophila capensis*, *A. cuspidata*, *A. setosa* y *Cyathea delgadii*).

Simabukuro *et al.* (1998) realizaron un estudio sobre la lluvia de esporas en la Reserva Biológica y Estación Experimental de Moji Guaçu, São Paulo, e incluyen descripciones basadas en observaciones al MO y MEB de las siguientes especies: *Cyathea delgadii* con exosporio verrucado cubierto por varillas, constituido por tres capas, y perisporio tenue y translucido y *C. phalerata* con exosporio granulado, constituido por dos capas, y perisporio ausente. Los autores ponen en evidencia que el proceso de acetólisis removería el perisporio en estas esporas. En *C. delgadii* las altas tasas de producción de esporas y la eficiente dispersión se verían contrarrestadas por la baja eficiencia en el establecimiento del esporofito en hábitats distintos a la selva en galería.

En su trabajo sobre las esporas de las pteridofitas de Rio Grande do Sul, Lorschteitter *et al.* (1999) describieron las pertenecientes a las Cyathaceae como triletes y tetraédricas-globosas. Los autores describieron a las esporas de las siguientes especies: *A. capensis* subsp. *polypodioides* y *A. setosa* con un perisporio formado por lomos irregulares; *C. atrovirens*, *C. corcovadensis*, *C. delgadii* y *C. phalerata* con un perisporio delgado formado por una densa capa de varillas. En todos los casos presenta fotos al MO y MEB.

En 2004, Johns estudió de modo comparativo la ornamentación del perisporio de *Cyathea s. l.* y *Dicksonia* de Nueva Guinea con el objetivo de encontrar soporte sistemático en esta característica de las esporas.

En lo que respecta a trabajos paleontológicos de esporas del grupo, la información es dispersa y parcial (Kremp & Kawasaki, 1972; Krasilov, 1978; Graham, 1979; Kurmann & Taylor, 1987; Balme, 1995; Raine *et al.*, 2006), aunque en los últimos años se han incrementado los estudios de la esporodermis de las Cyatheaceae fósiles.

Entre los trabajos recientes de gran importancia podemos citar a Smith *et al.* (2003), que comunican la primera evidencia inequívoca de estructuras reproductivas de Cyatheaceae fósiles, en el Cretácico Inferior (Barremiano) de Vancouver, Canadá. En este trabajo los autores observan con MO y MEB, un indusio sphaeropteroide que envuelve a los esporangios, que contienen 64 esporas. Las esporas son triletes, presentan un exosporio sin ornamentación y el perisporio continuo, muestra una superficie con un granulado irregular y con “rodlets”. Si bien estos caracteres coinciden con los generales de *Cyathea sensu* Lellinger, los autores tratan a la especie encontrada como *Cyathea s. l.*

También para el Cretácico, en el Aptiano de Antártida, Cesari (2006) describe la especie *Eocyathea remesaliae* y presenta importantes datos sobre las estructuras reproductivas. En este sentido los soros son globosos, exindusiados o con probable indusio hemitelioide, y 16 esporas por esporangio. Las esporas, estudiadas con MO y MEB, son triletes y el exosporio levigado. Cabe destacar que la autora encontró en el residuo de las mismas rocas analizadas, estructuras similares al perisporio de las especies actuales de *Alsophila*, por lo que se asume que podrían pertenecer a *E. remesaliae*.

Fronde fósil de *Alsophilites nipponensis* del Aptiano de la Formación Lipovetsk (Rusia) fueron analizadas por Shuklina & Polevova (2007). Los autores estudiaron con MEB y MET las esporas que se encontraron en el interior de los esporangios y observaron gran afinidad con las del género moderno *Alsophila*, aunque el perisporio está pobremente preservado.

Respecto a trabajos relacionados con la biología reproductiva y germinación, se han realizado diferentes estudios. Los primeros y más minuciosos datan de principios y mediados del siglo pasado, pudiéndose citar la descripción de los protalos de Cyatheaceae realizada por Stokey (1930) y las consideraciones de Miller (1965) sobre los gametófitos.

En 1982 Pérez-García & Riba estudiaron el efecto de la temperatura sobre la germinación de esporas de algunas especies mexicanas bajo condiciones experimentales.

En distintas especies presentes en el área se realizaron estudios completos de germinación de esporas bajo distintas condiciones. Entre estos se pueden citar experimentos en *C. corcovadensis* (Esteves & Felipe, 1985) y *C. delgadii* (Marcondes-Ferreira & Felipe, 1984; Randi & Felipe, 1988; Simambuko *et al.*, 1998). Otros autores (Conant, 1990; Huang *et al.* 2000; Hoshizaki & Yansura, 2005) también han trabajado en germinación de esporas, aunque con especies de otras áreas.

## **2. 5. Hipótesis y objetivos**

### 2. 5. 1- Hipótesis general

Las características superficiales de la esporodermis y su ultraestructura muestran patrones característicos que ponen en evidencia las respuestas a distintas necesidades en el desarrollo y dispersión de las esporas.

### 2. 5. 2- Hipótesis particulares

- Hay una ultraestructura de la pared común para todas las Cyatheaceae.
- Dado los ambientes particulares que habitan estos helechos arborescentes, las esporas presentan paredes con gran complejidad estructural y con un número elevado de capas, especialmente en la parte externa.
- Existe una correlación entre las características morfológicas del esporofito y la estructura de la pared de las esporas, poniendo en evidencia grupos naturales de especies.

### 2. 5. 3- Objetivo general.

El objetivo de esta investigación es aportar los datos palinológicos al conocimiento integral de los taxa pertenecientes a la familia Cyatheaceae presentes en el Cono Sur de Sudamérica y a los proyectos de biodiversidad en curso.

### 2. 5. 4- Objetivos particulares

- Analizar la morfología general de las esporas, con y sin tratamiento químico al Microscopio Óptico (MO), de la superficie y fracturas con Microscopio electrónico

de Barrido (MEB) y de la ultraestructura de sus paredes con Microscopio electrónico de Transmisión (MET).

- Caracterizar a las especies y grupos de especies de acuerdo a los datos obtenidos de este análisis.
- Determinar si existe una organización de la estructura de la pared típica a un determinado nivel taxonómico.
- Establecer si existen indicios que vinculen estos patrones morfológicos y ultraestructurales con necesidades particulares de las esporas.
- Analizar si las características de la morfología de las esporas y la ultraestructura de sus paredes podrían ser utilizadas para experimentos de conservación.
- Evaluar si la información aportada es importante para los estudios Paleopalinológicos. Particularmente en lo que respecta a la precisión de las asignaciones botánicas, lo que permitirá conocer la historia del grupo en el Cono Sur y aportar a la reconstrucción de las condiciones paleoambientales del área.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### **3. 1. Material utilizado**

El estudio se llevó a cabo utilizando material vivo coleccionado en los viajes de campaña realizados y material de herbario proveniente de instituciones nacionales y extranjeras.

El material procesado forma parte de la Palinoteca de la Cátedra de Palinología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata.

Los herbarios consultados pertenecen a las siguientes instituciones:

**BA:** Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Buenos Aires, Argentina.

**CTES:** Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes, Argentina.

**FCQ:** Facultad de Ciencias Químicas, Asunción, Paraguay.

**LIL:** Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

**LP:** Facultad de Ciencias Naturales y Museo, La Plata, Argentina.

**NY:** New York Botanical Garden, New York, Estados Unidos.

**PACA:** Instituto Anchietano de Pesquisas/UNISINOS, São Leopoldo, Brasil.

**SI:** Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro, Argentina.

**SPF:** Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

**US:** Smithsonian Institution, Washington, Estados Unidos.

### 3. 2. Viajes de campo

Durante el desarrollo de esta tesis se realizaron tres viajes de campaña a las provincias argentinas de Corrientes, Jujuy, Misiones y Salta. En estos viajes se tomaron datos in situ de las poblaciones y se fijó material vivo de las especies *Alsophila setosa* y *Cyathea atrovirens* con el objetivo de probar distintos protocolos para microscopía electrónica de transmisión, sobre estas muestras y comparar los resultados obtenidos a partir de material seco de herbario. A continuación se detallan los lugares visitados:

1. Realizado en marzo de 2006. Provincia Misiones, Municipios de Aristóbulo del Valle (Predio de la UNLP) y San Pedro (Pques. Pciales. Cruce Caballero, El Piñalito, Mocona y Esmeralda de Reserva Biosfera Yaboti).
2. Realizado en abril de 2007. Pprovincias de Chaco (Isla El Cerrito), Corrientes (Isla Apipe y San Cosme) y Misiones (Pques. Pciales. Cruce Caballero, Esmeralda de Reserva Biosfera Yaboti y Teyú Cuaré).
3. Realizado en abril de 2008. Provincias de Córdoba, San Luis, La Rioja, Catamarca, Tucumán, Salta y Jujuy (Pque. Nac. Calilegua).

### **3. 3. Aspectos nomenclaturales**

En lo que respecta a la sinonimia utilizada en esta tesis, para el género *Alsophila* se sigue a Gastony (1973) adaptada por Conant (1983), salvo en *A. odonelliana*, que se acepta a Lehnert (2005).

Para *Cyathea* se admite la sinonimia propuesta por Ponce (en prensa), excepto en *C. leucolepis*, donde se remite a Fernandes (1997).

En *Sphaeropteris gardneri* se sigue a Tryon (1971).

### **3. 4. Métodos experimentales**

#### **Para estudios con Microscopio Óptico (MO)**

Las esporas fueron tomadas del material con cubos de glicerina-gelatina de aproximadamente 5 mm<sup>3</sup> apoyados directamente sobre los esporangios del material de herbario. Estos cubos se apoyaron sobre portaobjetos, que se calentaron en mechero para lograr que tome estado líquido la gelatina-glicerina y luego se cubrieron con cubreobjetos. El sellado se realizó con parafina o esmalte sintético.

Las observaciones se realizaron en los microscopios ópticos Olympus BH, Olympus BH2, Olympus CH2, de la cátedra de Palinología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata.

Se probó aplicar la técnica de Acetólisis de Erdtman (1960) para la observación del material al MO, pero los resultados obtenidos no fueron satisfactorios debido al deterioro que causó este proceso en el material. Por lo tanto no fue utilizada para tratar las esporas de este trabajo.

#### **Para estudios con Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)**

Las esporas fueron colocadas en vasos de precipitado y sumergidas en CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub> al 3% en caliente durante 2 minutos (para preservar el perisporio, *cf.* Morbelli, 1980). Luego fueron filtradas con una malla de 69 µm, volcadas en tubos de ensayo en la misma solución, los cuales fueron equilibrados con agua destilada. Se centrifugó durante 10' a 2500 rpm. El líquido sobrenadante fue volcado. El residuo fue lavado con agua destilada en dos oportunidades y centrifugado durante 10' a 2500 rpm. Luego del último lavado, al residuo fue deshidratado con etanol 96% y el resultante se pipeteó con una micropipeta y se transfirió a platinas de acetato de 1 cm<sup>2</sup>. Posteriormente las muestras fueron cubiertas con oro para su observación.

Debido a la dificultad para separar el perisporio del exosporio en *Cyathea phalerata* se utilizó el método propuesto por Gastony (1974). Las esporas fueron preparadas como en el método de acetólisis, excepto que la mezcla acetolítica estándar fue sustituida por hidróxido de sodio 1 N, y se colocaron en recipientes por 1 minuto en baño de agua hirviendo.

Para realizar las observaciones se utilizó el microscopio electrónico de barrido JEOL JSMT-100, de la Unidad de Microscopía Electrónica del Museo de La Plata.

### **Para estudios con Microscopio Electrónico de Transmisión (MET)**

Se efectuó el procesamiento del material, siguiendo los protocolos que se detallan a continuación:

Material vivo Material estudiado: *Alsophila setosa*, *Cyathea atrovirens*

- Fijación:

0.01% Rojo de Ruthenio (RR) en 2% Glutaraldehído en buffer de fosfato (pH 7.4, a 4 °C, durante 24 horas)

- Lavado

Buffer de fosfato + 0.01% RR (pH 7.4, a 4 °C, durante 15 minutos, por dos veces).

- Posfijación

1% O<sub>4</sub>Os en solución acuosa + 0.01% RR (4°C, durante 2 horas).

- Lavado

Buffer de fosfato + 0.01% RR (pH 7.4, a 4 °C, durante 30 minutos, por tres veces).

- Deshidratación

La deshidratación del material se efectuó en series con etanol de 50% (4°C, durante 10 min x 2 veces), 70% (4°C, durante 20 minutos), 80% (4°C, durante 20 minutos), 95%

(T° ambiente, durante 30 minutos en vacío), 100% (T° ambiente, durante 12 horas en vacío x 3 veces). Luego en acetona (T° ambiente, durante 30 minutos en vacío, por 3 veces).

- Infiltración

OP : resina tipo Spurr de dureza media = 1:1 (T° ambiente, durante 12 horas)

OP : resina tipo Spurr de dureza media = 1:2 (T° ambiente, durante 3 horas)

- Inclusión

Resina Spurr de dureza media pura (T° ambiente, durante 1 hora)

- Polimerización

Tres pasadas de 12 horas cada una en resina Spurr de dureza media pura. Luego se dejó una noche en estufa a 70°C.

### Material de herbario

El material seco proveniente de herbarios se trató utilizando la metodología propuesta por Rowley & Nilsson (1972) con la finalidad de recuperar las estructuras transformadas como sigue:

- Hidratación

1% Alcian Blue (AB) en buffer de fosfato (pH 7.4, a T° ambiente, durante 24 horas)

- Fijación

1- 2% glutaraldehido + 1% AB en buffer de fosfato (pH 7.4, a T° ambiente, durante 12 horas). Material fijado: *Cyathea atrovirens*, *Cyathea corcovadensis*, *Cyathea delgadii*, *Sphaeropteris gardneri*

2- 1% glutaraldehido en buffer de fosfato (pH 7.4, a T° ambiente, durante 12 horas).

Material fijado: *Alsophila odonelliana*

- Postfijación

1- 1% OsO<sub>4</sub> en solución acuosa + 1% AB en buffer de fosfato (T° ambiente, durante 1 hora).

2- 1% OsO<sub>4</sub> en solución acuosa en buffer de fosfato (T° ambiente, durante 1 hora).

- Deshidratación

En serie creciente de acetona de 30%, 50%, 80%, 100%.

- Infiltración

La infiltración del material se efectuó en resina Spurr de dureza media.

### Cortes

Con ultramicrotomo se efectuaron cortes semifinos para análisis, medición y registro panorámico de esporas con microscopio fotónico. Para estos fines los cortes de 3 µm de espesor, previa tinción con azul de toluidina a pH 4.5, fueron observados.

Los cortes finos para observación con MET se montaron sobre grillas de oro u acero inoxidable.

### Tinción

El material montado en las grillas se trató con Acetato de Uranilo (durante 15 minutos) y posteriormente con Citrato de Plomo (durante 3 minutos).

### Análisis de los cortes delgados

Los cortes delgados fueron analizados con los microscopios electrónicos de transmisión M 109-Turbo Zeiss, del Servicio de Microscopía Electrónica de Transmisión del Instituto de Biología Celular de la Facultad de Medicina de la UBA, y JEM 1200EX II Jeol, del Servicio Central de Microscopía Electrónica de la Facultad

de Veterinaria de la UNLP. Los registros fotográficos tomados fueron revelados en el Servicio de Fotografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP.

### **3. 5. Descripción del esporofito.**

Para la descripción de la parte vegetativa a nivel específico, se realizaron observaciones en el campo, sobre el material de herbario y consultas bibliográficas, particularmente de los trabajos de Tryon (1971), Gastony (1973), Barrington (1978), Conant (1983) y Fernandes (1996).

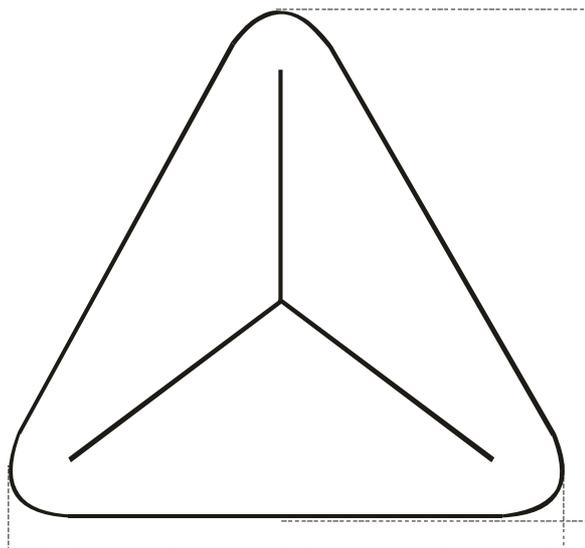
Se tomaron medidas del rizoma, frondes, pecíolo, lámina y pinnas. Se describieron la arquitectura de la lámina y las escamas de la base de los pecíolos, así como la forma de los indusios.

Se incluyeron mapas de distribución de las especies al final de la discusión de cada género.

### 3. 6. Terminología utilizada en la descripción del material palinológico

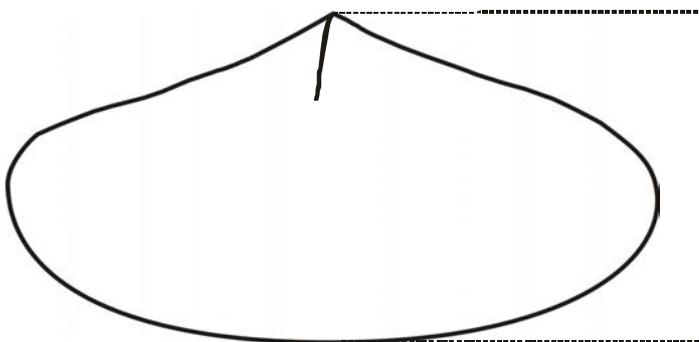
Las medidas tomadas de los distintos diámetros de las esporas se realizaron en base al material montado en gelatina-glicerina, sobre la base de 25 mediciones de cada ejemplar analizado. El espesor de las paredes fue medido con micrómetro Filar en base a 15 mediciones por ejemplar. La medida de los distintos estratos del perisporio se realizó en base a fotomicrografías tomadas en los microscopios electrónicos de transmisión.

Se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros de acuerdo a la naturaleza de las aberturas y la polaridad de las esporas:



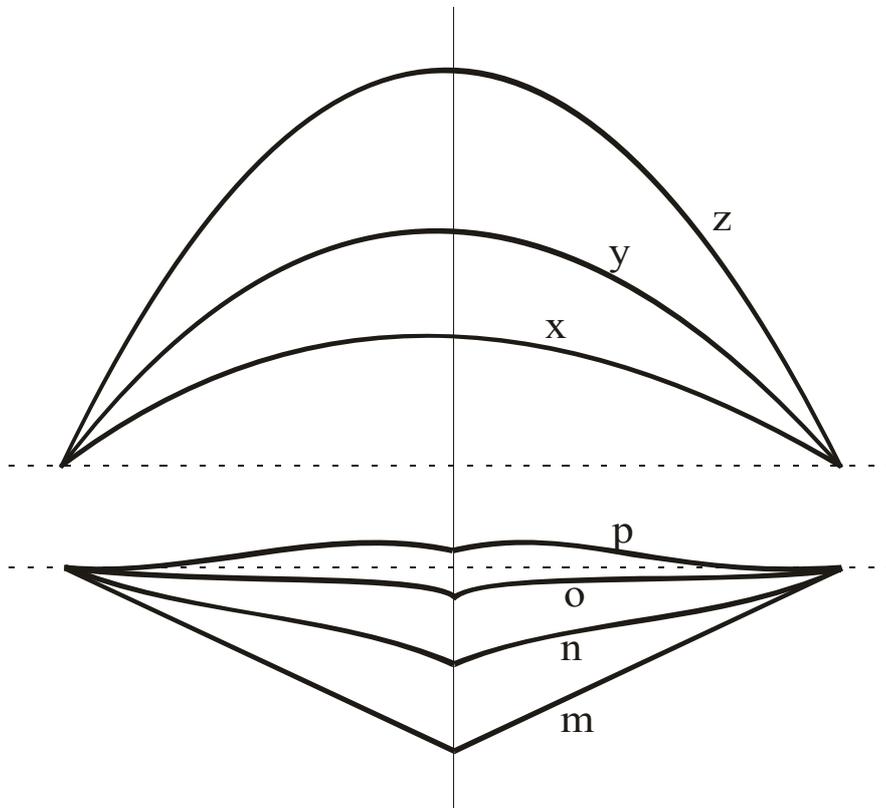
Diámetro Ecuatorial B

Diámetro Ecuatorial A



Diámetro Polar

Para definir la forma de las esporas en vista ecuatorial, se adoptaron los términos propuestos por Nayar & Devi (1966) y que se esquematizan a continuación:



z: subcónica

y: hemisférica

x: convexa

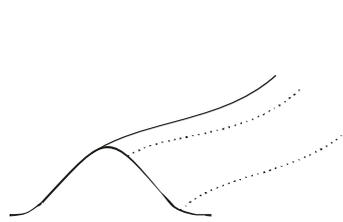
p: cóncava

o: plana

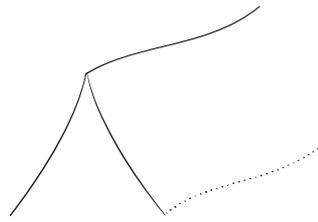
n: convexa

m: cónica

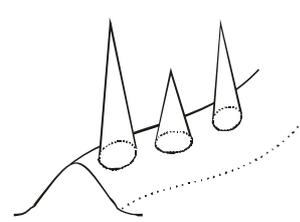
Respecto a los elementos de la ornamentación la terminología puede resultar confusa, particularmente en *Alsophila* y *Sphaeropteris*, por lo que se decidió incluir esquemas que esclarezcan la interpretación de este tópico:



Lomo de margen  
laevigado



Lomo-crestado



Lomo de margen  
equinado

Un término utilizado en las descripciones es el de exosporio “blechnoide”, acuñado por Lugardon en 1971. Este autor caracterizó este tipo de exosporio por la presencia de dos capas: la capa interna, delgada y más evidente en la base de la lesura, y la capa externa, más gruesa y con un estrato interno denominado “estrato fisurado”, donde se destaca la presencia de canales y fisuras pequeñas.

### 3. 7. *Material de herbario estudiado:*

*Alsophila capensis* (L. F.) J. Sm. subsp. *polypodioides* (Sw:) D. S. Conant. MO: BRASIL, MINAS GERAIS, Bocaina, Rio Vérmelo, 19/7/1937, *Castellanos* (BA 20555), MP 4101; PARANA, Rio Branco do Sul, 23/1/1976, *Kunioshi 3732* (PACA), MP 4116; RIO GRANDE DO SUL, Sta. Cruz, 1906, *Jörgens s/n* (BA, SI, US), MP 4086; SANTA CATARINA, Mun. B. Retiro, Campo dos Padres, 15/11/1948, *Reitz 2350* (US); *idem*, Rio Canoas, 22/11/1956, *Smith & Klein 7852* (US). MEB: BRASIL, MINAS GERAIS, Bocaina, Rio Vérmelo, 19/7/1937, *Castellanos* (BA 20555), MP 4101; PARANA, Rio Branco do Sul, 23/1/1976, *Kunioshi 3732* (PACA), MP 4116; RIO GRANDE DO SUL, Sta. Cruz, 1906, *Jörgens s/n* (BA, SI, US), MP 4086; *idem*, San Francisco de Paula, 19/12/1950, *Sehnem 5213* (PACA), MP 4117.

*Alsophila odonelliana* (Alston) M. Lehnert. MO: ARGENTINA, JUJUY, Parque Nacional Calillegua, Río de las Piedras, 2/10/1986, *Iudica & Ramadori 343* (SI), MP 4110; SALTA, Sta. Victoria, San Andrés, 13/7/1945, *Capurro 279* (BA, LIL), MP 920; *idem*, Dto. Oran, Urundel, 4/7/1945, *Capurro 245* (BA, LIL), MP 963; *idem*, Dto. Oran, 14/6/1949, *Vervoorst 440* (LIL), MP 964; *idem*, Dto. Oran, 1944, *Willink 285* (LIL), MP 965. MEB: ARGENTINA, JUJUY, Parque Nacional Calillegua, Río de las Piedras, 2/10/1986, *Iudica & Ramadori 343* (SI), MP 4110; SALTA, Dto. Oran, 1944, *Willink 285* (LIL), MP 965; *idem*, San Andrés, *Rial Alberti s/n* (BA), MP 4111. BOLIVIA, SANTA CRUZ DE LA SIERRA, Florida, *Nee 49687* (CTES). MET: ARGENTINA, SALTA, Dto. Oran, 1944, *Willink 285* (LIL), MP 965.

*Alsophila setosa* Kaulf. MO: ARGENTINA, MISIONES, Frontera, 28/8/1950, *Diem 1503* (SI), MP 4100; *idem*, Frontera, San Antonio, 21/7/1945, *Krapovickas 2501* (LP),

MP 4073. BRASIL, PARANA, Villa Velha, 30/4/1914, *Dusén 14839* (SI), MP 4075. PARAGUAY, CAAGUAZU, Pastoreo, Col. Sommerfeld, 28/1/1951, *Saprrre & Vervoorst 2269* (LP), MP 4076. **MEB:** ARGENTINA, MISIONES, Frontera, 28/8/1950, *Diem 1503* (SI), MP 4100; *idem*, Frontera, San Antonio, 21/7/1945, *Krapovickas 2501* (LP), MP 4073; *idem*, San Pedro, Reserva Esmeralda, 18/3/2006, *Marquez & Carrión 164* (LP). BRASIL, PARANA, Villa Velha, 30/4/1914, *Dusén 14839* (SI), MP 4075. PARAGUAY, CAAGUAZU, Pastoreo, Col. Sommerfeld, 28/1/1951, *Saprrre & Vervoorst 2269* (LP), MP 4076. **MET:** ARGENTINA, MISIONES, San Pedro, Reserva Esmeralda, 18/3/2006, *Marquez & Carrión 164* (LP); *idem*, P. P. Piñalito, 20/3/2006, *Marquez & Carrión 168* (LP).

***Alsophila sternbergii* (Pohl ex Sternb.) D. S. Conant.** **MO:** BRASIL, PARANA, Mun. Guaraquecaba, Serrinha, 9/8/1967, *Hatschbach 16915* (PACA), MP 4124; *Ídem*, Mun. Antonina, Sapitanduva, 21/10/1971, *Hatschbach 27549* (PACA), MP 4118; *Ídem*, Morretes, 20/1/1994, *Fernández 114* (SPF); BAHIA, *Blanchet s/n* (NY 678602); *Ídem*, Morretes, *Fernandes 1114* (SPF). PARAGUAY, CANINDEYU, Reserva Natural Mbaracayú, *Marín & Jiménez 332* (CTES, FCQ), MP 4120. **MEB:** BRASIL, PARANA, *Idem*, Mun. Antonina, Sapitanduva, 21/10/1971, *Hatschbach 27549* (PACA), MP 4118; *Ídem*, Morretes, *Fernandes 1114* (SPF). PARAGUAY, CANINDEYU, Reserva Natural Mbaracayú, *Marín & Jiménez 332* (CTES, FCQ), MP 4120.

***Cyathea atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domin.** **MO:** ARGENTINA, CORRIENTES, Ituzaingó, Arroyo Garapé y Río Paraná, 23-24/X/1974, *Tressens et al. 372* (LP, CTES), MP 4084; MISIONES, Gral. Manuel Belgrano, Arroyo Urugua-í, 15/I/1963, *Partridge*

*s/n* (BA 70619 a-b-c), MP 4099; *Ídem*, Iguazú, Pto. Iguazú 28/08/1920, *Rodriguez 430* (SI, BA), MP 4078; *Ídem*, San Pedro, P. P. Piñalito, 20/3/2006, *Marquez & Carrión 181* (LP); *Ídem*, San Antonio, 01/03/1951, *Capurro 935* (BA). BRASIL, RIO GRANDE DO SUL, Rio Pardo, Fachinal de dentro, 1906, *Jürgens s/n* (Rosenstock 257) (SI). PARAGUAY, SAN PEDRO: Col. Guayaibí, 26/II/1968, *Krapovickas et al. 14282* (SI). **MEB:** ARGENTINA, CORRIENTES, Ituzaingó, Arroyo Garapé y Río Paraná, 23-24/X/1974, *Tressens et al. 372* (LP, CTES), MP 4084; MISIONES, Guaraní, 28/4/1997, *Morrone et al. 2181* (SI), MP 4080; *Ídem*, Gral. Manuel Belgrano, Arroyo Uruguayí, 15/I/1963, *Partridge s/n* (BA 70619 a-b-c), MP 4099; *Ídem*, Iguazú, Pto. Iguazú 28/08/1920, *Rodriguez 430* (SI, BA), MP 4078. **MET:** ARGENTINA, MISIONES, Gral. Manuel Belgrano, Arroyo Uruguayí, 15/I/1963, *Partridge s/n* (BA 70619 a-b-c), MP 4099; *Ídem*, San Pedro, P. P. Piñalito, 20/3/2006, *Marquez & Carrión 181* (LP); *Ídem*, San Ignacio, P. P. Teyu Cuare, 28/4/2007, *Marquez et al. 230* (CTES, LP).

***Cyathea corcovadensis* (Raddi) Domin.** **MO:** BRASIL, PARANA, 12/01/1964, *Pereira 8224* (LP), MP 4105; *Ídem*, Curitiba, 02/02/1950, *Krapovickas et al. 23143* (LP), MP 4104; *Ídem*, Guaratuba, 22/12/1911, *Dusén 13729* (SI), MP 4102; SANTA CATARINA, Lages, 1906, *Spanagel s/n* (Rosenstock 240) (LP), MP 4103. **MEB:** BRASIL, PARANA, 12/01/1964, *Pereira 8224* (LP), MP 4105; *Ídem*, Curitiba, 02/02/1950, *Krapovickas et al. 23143* (LP), MP 4104; *Ídem*, Guaratuba, 22/12/1911, *Dusén 13729* (SI), MP 4102; SANTA CATARINA, Lages, 1906, *Spanagel s/n* (Rosenstock 240) (LP), MP 4103. **MET:** BRASIL, PARANA, 12/01/1964, *Pereira 8224* (LP), MP 4105.

***Cyathea delgadii* Sternb.** ARGENTINA, CORRIENTES, Ituzaingó, Ea. "El Plata", 6-8/2/1944, *Meyer 6278* (US 2361678); BRASIL, SANTA CATARINA, Sao Jose, 02/02/1994, *Fernandes 1132* (SPF); PARANA, Paranagua, 21/01/1994, *Fernandes et al. 1117* (SPF), MP 4127; *Ídem*, Piraquara, 20/01/1994, *Fernandes 1115* (SPF). **MEB:** ARGENTINA, CORRIENTES, Ituzaingó, Ea. "El Plata", 6-8/2/1944, *Meyer 6278* (US 2361678); BRASIL, SANTA CATARINA, Sao Jose, 02/02/1994, *Fernandes 1132* (SPF); PARANA, Paranagua, 21/01/1994, *Fernandes et al. 1117* (SPF), MP 4127; *Ídem*, Piraquara, 20/01/1994, *Fernandes 1115* (SPF). **MET:** BRASIL, PARANA, Paranagua, 21/01/1994, *Fernandes et al. 1117* (SPF), MP 4127.

***Cyathea hirsuta* Presl.** **MO:** BRASIL, PARANA, Paranagua, Alexandra-Matinhos, 21/5/1994, *Fernandes 1123* (SPF); SANTA CATARINA, Rio do Sul, 4/2/1994, *Fernandes 1150* (SPF); *Ídem*, Ilha Santa Catarina, 20/12/1936, *Sehnem 786* (PACA); *Ídem*, Morro da lagoa, 19/3/1965, *Sehnem 8398* (PACA). **MEB:** BRASIL, PARANA, Paranagua, Alexandra-Matinhos, 21/5/1994, *Fernandes 1123* (SPF); SANTA CATARINA, Ilha Santa Catarina, 20/12/1936, *Sehnem 786* (PACA).

***Cyathea leucifolia* Domin.** **MO:** BRASIL, PARANA, Morretes, Rio Passa Sete, 5/10/1072, *Hatschbach 30390* (PACA); *Ídem*, Guaratuba, 14/12/1971, *Krieguer 11129* (PACA). **MEB:** BRASIL, PARANA, Morretes, Rio Passa Sete, 5/10/1072, *Hatschbach 30390* (PACA).

***Cyathea phalerata* Mart.** **MO:** BRASIL, PARANA, Paranaguá, 21/1/1994, *Fernandes & Abreu 1118* (SPF), MP 4135; *Ídem*, Ponta Grossa, 21/9/1994, *Krieguer 10818* (SPF); SANTA CATARINA, Angelina, 3/2/1994, *Fernandes 1133* (SPF); *Ídem*, Rio do Sul,

4/2/1994, *Fernandes 1148* (SPF); *Ídem*, Ilhota, Parque Botânico Morro do Baú,  
3/2/1994, *Fernandes 1140* (SPF), MP 1140. **MEB:** BRASIL, PARANA, Paranaguá,  
21/1/1994, *Fernandes & Abreu 1118* (SPF), MP 4135; SANTA CATARINA, Ilhota,  
Parque Botânico Morro do Baú, 3/2/1994, *Fernandes 1140* (SPF), MP 1140.

***Cyathea villosa* Willd.** **MO:** BRASIL, PARANA, Senges, Morro Pelado, *Hatschbach*  
26771 (CTES), MP 4125; *Ídem*, Furnas, Vila Velha, Ponta Grossa, 13/03/1965, *Reitz &*  
*Klein 17509* (US). **MEB:** BRASIL, PARANA, Senges, Morro Pelado, *Hatschbach*  
26771 (CTES), MP 4125.

***Sphaeropteris gardneri* (Hook.) Tryon.** **MO:** BRASIL, SANTA CATARINA, Mun.  
Papanduva, Serra do Espigão, 20/04/1962, *Reitz & Klein 12656* (PACA), MP 4121;  
*Ídem*, Biguaçu, Antinha, 04/03/1943, *Reitz 232* (PACA); *Ídem*, Ilhota, Morro de Baú,  
21/01/1953, *Reitz 5170* (PACA). **MEB:** BRASIL, SANTA CATARINA, Mun.  
Papanduva, Serra do Espigão, 20/04/1962, *Reitz & Klein 12656* (PACA), MP 4121;  
*Ídem*, Biguaçu, Antinha, 04/03/1943, *Reitz 232* (PACA). **MET:** BRASIL, SANTA  
CATARINA, Mun. Papanduva, Serra do Espigão, 20/04/1962, *Reitz & Klein 12656*  
(PACA), MP 4121.

## 4. RESULTADOS

# Género

## *Alsophila*



## 4. 1. Género *Alsophila*

### 4. 1. 1. Morfología general de las esporas del género

Las esporas de *Alsophila* son triletes y triangulares en vista polar, con los lados rectos a cóncavos y los ángulos redondeados. En vista ecuatorial son plano-hemisféricas en *A. cuspidata* y *A. sternbergii*, convexas-hemisféricas en *A. odonelliana* y *A. setosa* y cónicas-subcónicas en *A. capensis*.

Las lesuras son sinuosas y llegan a  $\frac{3}{4}$  partes del diámetro de la espora, excepto en *A. sternbergii*, donde llegan hasta el ecuador.

El perisporio tiene un grosor de 0.6-2.0  $\mu\text{m}$ , presenta lomos o lomos-crestados y al MO es castaño oscuro. Los lomos miden de 1.5-5,8  $\mu\text{m}$  de altura.

El exosporio tiene un grosor de 1.1-3.3  $\mu\text{m}$ , la superficie es psilada y al MO es amarillo a castaño claro.

*Alsophila capensis* (L. f.) J. Sm. subsp. *polypodioides* (Sw.) D. S. Conant, J. Arnold  
Arbor. 64(3): 369. 1983.

*Cyathea polypodioides* Sw. Kongl. Vetensk. Acad. Handl. 78. 1817. Holotipo: Brasil,  
Est. Minas Gerais, Villa Rica, *Freyreis s/n* (S).

Descripción del esporofito:

Rizoma poco desarrollado de hasta 1 m de altura y 15 cm de diámetro. Frondes hasta 1.1 m de largo. Pecíolos castaño oscuro, en relación 1:2 con la lámina, lisos o escasamente tuberculados; escamas de la base de los pecíolos triangulares, 0.8 cm long. con una seta apical castaño oscuro y margen lacerado; con uno a varios pares de aflebias basales. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, ápices acuminados. Pinnas oblongas, ápice acuminado a atenuado, de 45 cm long. Pinnulas pinnatífidas, sésiles a cortamente paeioluladas. Soros inframedianos o próximos a la costa, indusio hemitelioide, parafisos más cortos que los esporangios.

Distribución:

BRASIL: Estados de Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Río Grande do Sul, Santa Catarina y São Paulo.

### Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 43.2-(47.9)-51.5  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 39.8-(44.0)-49.0  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 33.2-(37.3)-44.0  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 1.5-2  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 0.5-1  $\mu\text{m}$

La ornamentación de la spora se caracteriza por presentar lomos crestados largos y altos, con margen equinado. En vista proximal, los lomos cercanos a las lesuras son paralelos a estas y los más alejados tienen el mismo sentido que los lados. En vista distal son paralelos a los lados, aunque en el área polar se distribuyen sin un sentido definido (Lam. 1; Fig. B). En vista ecuatorial los lomos se unen en los ángulos (Lam. 1; Fig. C). Sobre las lesuras suelen observarse superficies extensas desprovistas de ornamentación pero con la estructura básica del perisporio (Lam. 1; Fig. E). Se observa una tendencia de los lomos a curvarse desde el centro hacia los lados en ambas áreas polares, aunque esta característica es más evidente en el polo proximal (Lam. 1; Fig. A).

La superficie está compuesta por cordones de aproximadamente 150 nm de diámetro y perforaciones (Lam. 1; Figs. D, F-G). Los cordones se entrelazan aleatoriamente y, en muchos casos, forman manojos. Estos manojos representan la parte más importante de la estructura de los lomos y definen su margen equinado (Lam. 1; Fig. D), que está demarcado por la unión de estos conglomerados de cordones, los que además delimitan las perforaciones. Estas últimas se encuentran presentes en toda la superficie de la spora, incluyendo lomos y espinas (Lam. 1; Fig. E).

**Lámina 1. Esporas de *Alsophila capensis* subsp. *polypodioides* vistas al MEB**

**A.** Vista proximal, mostrando la curvatura de los lomos crestados; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial; **D.** Detalle de la superficie con lomos crestados de margen equinado (círculo). Se observan manojos de cordones y perforaciones; **E.** Detalle de la superficie proximal, donde se evidencian lomos crestados con margen equinado y la superficie de una lesura cubierta por una superficie aplanada; **F.** Detalle de la superficie distal, donde se observa que las crestas y sus equinas marginales están compuestas por manojos de cordones y perforaciones (círculo); **G.** Detalle de la unión de las tres lesuras.

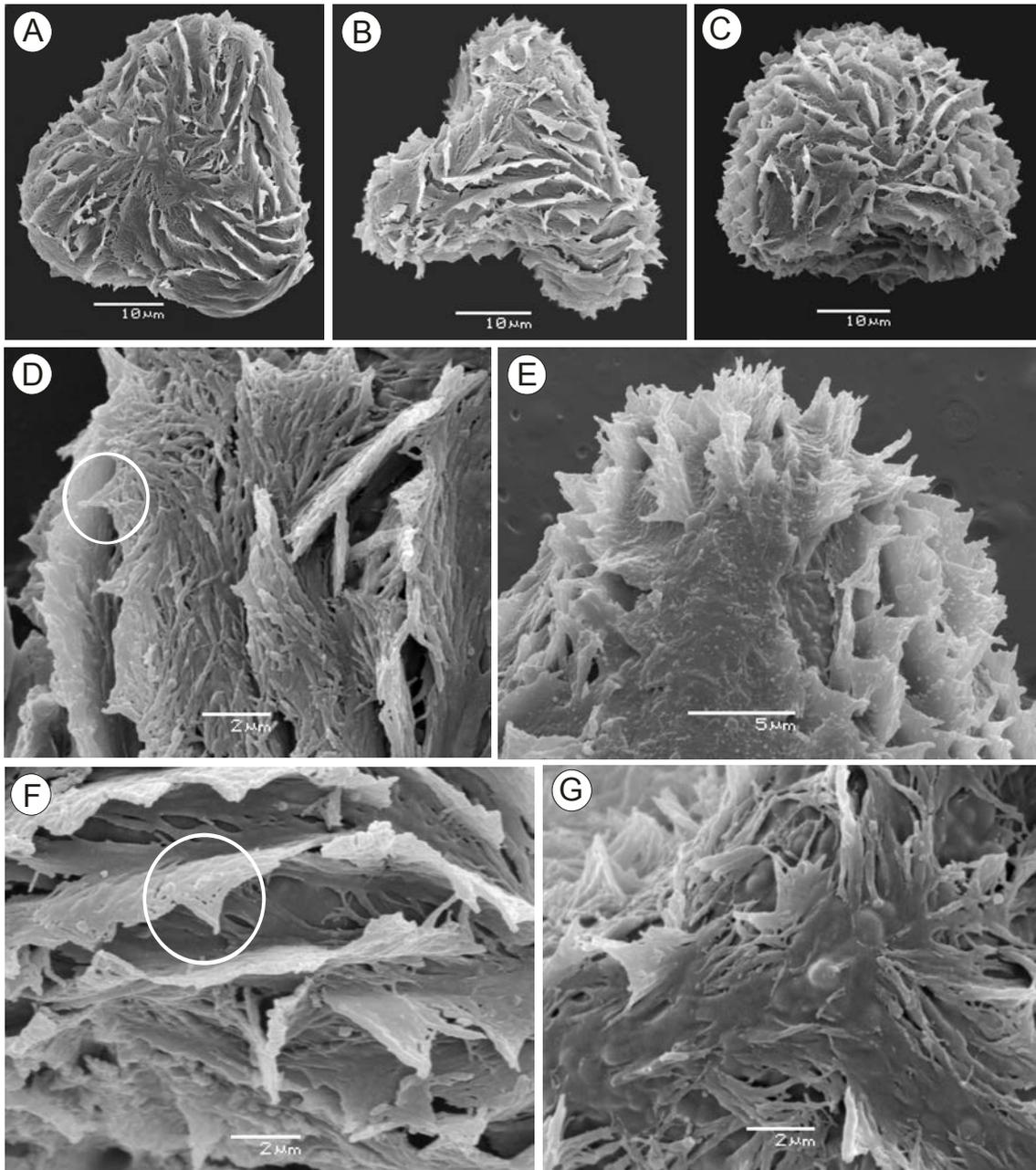


Lámina 1

*Alsophila odonelliana* (Alston) M. Lehnert. Brittonia 57(3): 231. 2005.

*Cyathea odonelliana* Alston, Lilloa 30: 108, t. 1-2. 1960. Holotipo: Argentina, Salta: Dpto. Orán, San Andrés, 1000 m, *Willink* 285 (BM; Isotipo: LIL!).

Descripción del esporofito:

Rizoma de 4-8 m de altura y 22 cm de diámetro, cubierto por espinas y escamas marrones, con bases foliares persistentes. Frondes de 1.8-2.8 m long. Pecíolos marrón oscuro, en relación 1:3 con la lámina, con espinas de 1 cm; escamas de la base de los pecíolos lineares, 1 cm long, con una seta apical oscura. Láminas 2-pinnado-pinnatifidas, ápices abruptamente reducidos. Raquis castaño, con pequeñas espinas. Pinnas cortamente pecioluladas, de 60 cm long, raquilla pubescente y distalmente alada. Pinnulas lineares, de margen serrado. Cóstulas y láminas pubescentes, a veces con pequeñas escámulas con setas; venas simples o furcadas. Soros costales con indusio discoide a cyatheoide, que se rompen a la madurez, parafisos tan largos como los esporangios, receptáculo columnar.

Distribución:

ARGENTINA: Provincias de Salta y Jujuy. BOLIVIA: Departamentos de Cochabamba, Chuquisaca, Santa Cruz y Tarija.

### Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 36.0-(41.2)-46.8  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 34.2-(39.4)-45.9  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 23.4-(31.7)-37.8  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 0.6-1.7  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 0.6-2.0  $\mu\text{m}$

La ornamentación presenta lomos crestados altos y elongados, que pueden extenderse a lo largo de un lado, uniendo dos ángulos de las esporas (Lam. 2; Figs A-B). En vista proximal los lomos se ordenan paralelos a los lados y a las lesuras y se fusionan en los ángulos (Lam. 2; Fig. C). En vista distal los lomos se distribuyen paralelos a los lados, tomando en el área polar una configuración triangular (Lam. 2; Fig. B). Las lesuras suelen estar cubiertas total o parcialmente por superficies aplanadas (Lam. 2; Fig. A). Estas laminaciones aplanadas también pueden encontrarse en otros sectores de la espora.

La superficie del perisporio está constituida por una red de cordones de aproximadamente 150 nm de diámetro y perforaciones (Lam. 2; Figs. D-G). Los cordones se encuentran entrelazados y fusionados formando manojos y se observan tanto en las superficies aplanadas como en los elementos de la ornamentación y entre ellos (Lam. 2; Figs. F-G). Estos cordones tienen la misma orientación que los lomos y pueden formar, en el margen de estos últimos, pequeñas espinas (Lam. 2; Fig. E).

Las perforaciones se encuentran en la base de los lomos o entre ellos y están delimitadas por cordones. En la superficie, también pueden observarse cuerpos esferoidales (Lam. 2; Fig. A).

**Lámina 2. Esporas de *Alsophila odonelliana* vistas al MEB**

**A.** Vista proximal. Las lesuras están cubiertas por láminas aplanadas; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial, donde se observan varios lomos unidos en un ángulo; **D.** Detalle de la superficie, con cordones que tienen el mismo sentido que los lomos crestados; **E.** Detalle de la superficie distal, se advierten pequeñas espinas en el margen de un lomo (círculo) y la superficie constituida por cordones y perforaciones (flecha); **F.** Detalle de la superficie donde se distinguen los cordones y las perforaciones (flecha); **G.** Detalle de la superficie proximal, se observan lomos crestados fusionados, cordones y perforaciones (flecha).

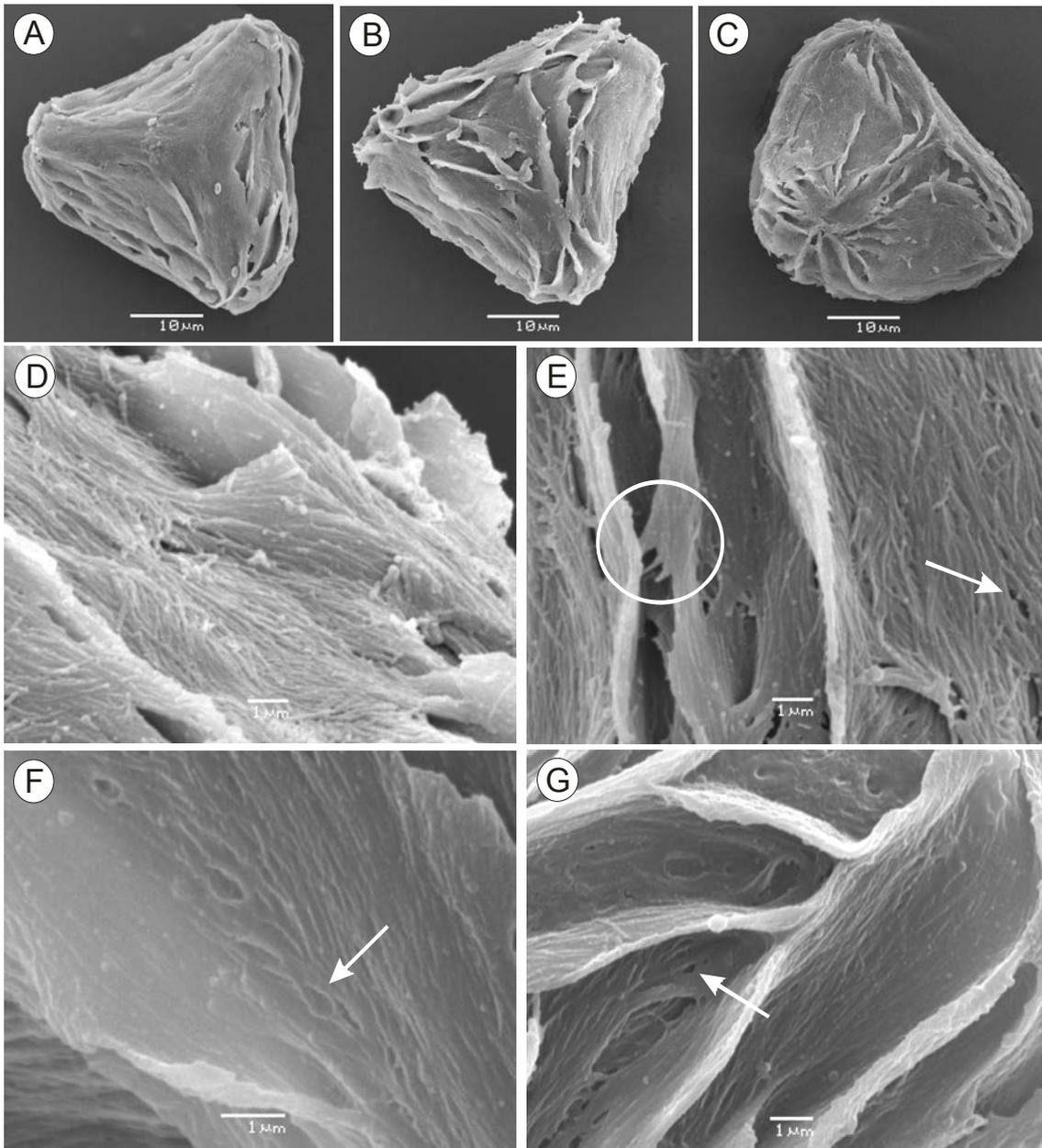


Lámina 2

*Alsophila setosa* Kaulf., Enum. Fil.: 249. 1824. Holotipo: Brasil, *Chamisso s/n* (LZ presumiblemente destruido; Isotipo: B)

*Nephelea setosa* (Kaulf.) Tryon, Contr. Gray Herb. 200: 40. 1970. Holotipo: Brasil, *Chamisso s/n* (LZ, presumiblemente destruido; isotipo, B).

Descripción del esporofito:

Rizoma simple o ramificado, estolonífero, de 3-12 m de altura y 5-19 cm de diámetro, con las bases foliares persistentes. Frondes de 1-4 m long. Pecíolos en relación 1:2 con la lámina, con espinas oscuras ca. 1.5 cm. long.; la parte basal con escamas castaño-oscuro, de hasta 5 cm long, con seta apical oscura y, usualmente, con setas adicionales menores, apicales o laterales; con pares de pinnas basales subaflebioides. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, abruptamente reducidas, superficies abaxial y adaxial glabras. Raquis y raquilla pubescentes en el lado adaxial y generalmente glabrescentes en el abaxial. Pinnae alternas, de hasta 65 cm long. Pinnulas sésiles a cortamente pecioluladas. Cara abaxial de costas, cóstulas y nervaduras con tricomas simples o ramificados y escámulas planas con o sin setas oscuras. Soros próximos a las costas, sobre venas furcadas, receptáculo columnar a globoso, con parafisos mas o menos cortos, indusio hemitelioide.

Distribución:

ARGENTINA: Provincia de Misiones. BRASIL: Estados de Espirito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Río Grande do Sul, Santa Catarina y São Paulo. PARAGUAY: Departamentos de Alto Paraná, Amambay, Caaguazú, Caazapa, Cordillera, Paraguari y San Pedro.

### Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 36.9-(42.6)-46.7  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 35.7-(40.2)-44.3  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 28.7-(32.0)-36.9  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 2.3-3.3  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 1.0-1.8  $\mu\text{m}$

La ornamentación se caracteriza por presentar lomos generalmente cortos, de margen redondeado (Lam. 3; Figs. G, J). En la mayoría de los casos los lomos se anastomosan y fusionan (Lam. 3; Fig. B, D), formando un retículo que es más marcado en el polo proximal (Lam. 3; Fig. A). En vista ecuatorial se evidencia que en los ángulos confluyen varios lomos (Lam. 3; Fig. C). Se observan láminas aplanadas que pueden cubrir amplias extensiones de la superficie. Estas estructuras presentan perforaciones y se ubican preferentemente sobre las lesuras (Lam. 3; Fig. A, H-I).

La superficie del perisporio esta formada por cordones de 80 nm de diámetro, y perforaciones. Los cordones se anastomosan formando un retículo muy cerrado que se orienta en sentido perpendicular a los lomos (Lam. 3; Fig. E-G). Este retículo forma una malla ordenada con pequeñas verrugas distribuidas regularmente en la superficie (Lam. 3; Fig. F).

**Lámina 3. Esporas de *Alsophila setosa* vistas al MEB**

**A.** Vista proximal. Se puede apreciar una lámina aplanada y lomos anastomosados, formando un retículo; **B.** Vista distal mostrando lomos anastomosados; **C.** Vista ecuatorial; **D.** Detalle de la superficie distal, con lomos anastomosados; **E.** Detalle de la superficie, mostrando una red de finos cordones (flecha) con sentido perpendicular a los lomos; **F.** Detalle de la superficie donde se distinguen los cordones (flecha) y pequeñas verrugas superficiales (círculo); **G.** Detalle de la superficie proximal. Se observan lomos fusionados y cordones (flecha); **H.** Vista proximal cubierta por superficies aplanadas extensas; **I.** Detalle de la Fig. H. donde se observan perforaciones (flecha); **J.** Detalle de la superficie proximal, con los lomos formando un retículo.

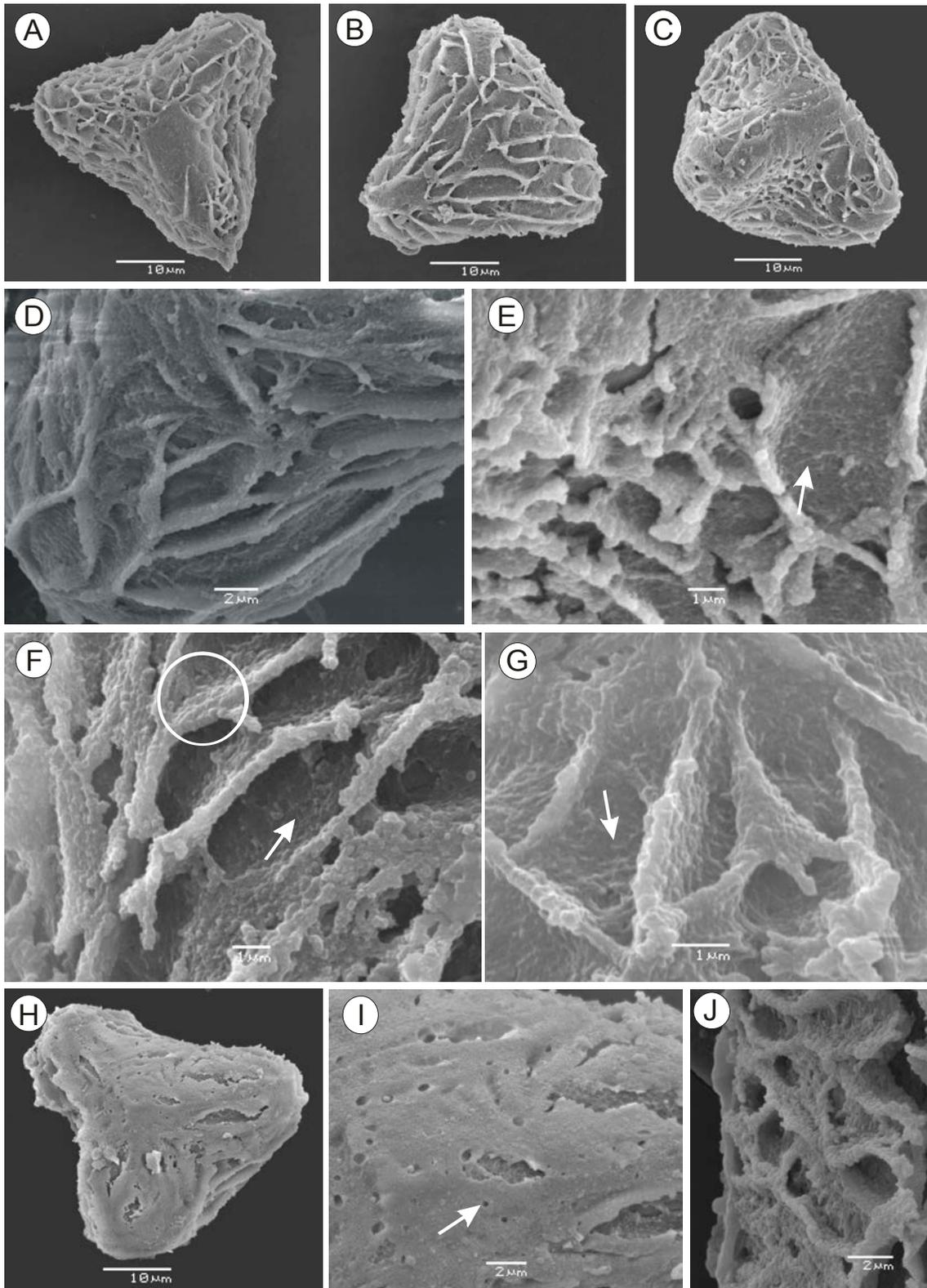


Lámina 3

*Alsophila sternbergii* (Sternb.) Conant, J. Arnold Arbor. 64(3): 371. 1983.

*Cyathea sternbergii* Pohl ex Sternb. Fl. Der Vorwelt 1: 47, t. C. 1820. Tipo: habitat in Brasiliae Capitania Goyaz ad Limoero non procul St. Izidro, Pohl (PRC o tal vez W; isotipos: BR, BM fragmento y fotos de especímenes de BR, PRC). *Non Cyathea sternbergii* Domin, Pterid. 263. 1929, *nom. nov.* para *Alsophila elegans* Mart., *non Cyathea elegans* Hew.

Descripción del esporofito:

Rizoma simple con yemas laterales, de hasta 15 m de altura y 10-18 cm de diámetro. Frondes de 1-4 m long. Pecíolos castaños en relación 1:4 con la lámina, marrones, con tubérculos y espinas oscuras ca. 1.1 cm long.; las escamas de la parte basal concolores, de hasta 1 cm long, con una seta subapical oscura y, raramente, con setas laterales menores. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, con pinna apical conforme. Pinnas alternas, de hasta 75 cm long. Pinnulas sésiles a cortamente pecioluladas. Cara abaxial de costas, cóstulas y nervaduras con tricomas estrellados con brazos irregulares y escamas pequeñas de distinta forma. Soros próximos a la costa con indusios globosos, urceolados a sphaeropteroides, portando pelos estrellados similares a los de las venas.

Distribución:

BRASIL: Estados de Bahia, Espirito Santo, Goiás, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro y São Paulo. PARAGUAY: Departamentos de Amambay, Canindeyú, Cordillera y Paraguari.

Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 50.6-(56.4)-67.2  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 45.7-(53.1)-60.6  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 34.0-(37.4)-44.0  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 2.8-3.8  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 0.6-1.0  $\mu\text{m}$

La ornamentación presenta lomos crestados cortos, con márgenes irregulares (Lam. 4; Figs. A-B). Los lomos están próximos entre si y pueden estar fusionados (Lam. 4; Fig. C). Se observan en ambos polos y se distribuyen en toda la superficie sin un patrón definido, aunque en las cercanías de las lesuras pueden estar paralelos a estas.

La superficie del perisporio está formada por una red de cordones de 120 nm de diámetro y perforaciones (Lam. 4; Figs. E-G). Los cordones se encuentran entrelazados de manera desordenada formando una malla reticulada de lúmenes pequeños, más evidente en los lomos que en el resto de la superficie (Lam. 4; Fig. F).

Las perforaciones son más numerosas en la base de los lomos (Lam. 4; Fig. G) y, ocasionalmente, se observan cuerpos esféricos superficiales.

**Lámina 4. Esporas de *Alsophila sternbergii* vistas al MEB**

**A.** Vista proximal; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial; **D.** Detalle de la superficie distal con lomos crestados cortos, distribuidos sin un patrón definido; **E.** Detalle de la superficie, mostrando perforaciones (flecha) en la base de los lomos crestados; **F.** Detalle de la superficie distal donde se distinguen los cordones (punta de flecha) en la base de los lomos; **G.** Detalle de la superficie proximal, se observan cordones (punta de flecha) y perforaciones (flecha) en la base de los lomos crestados.

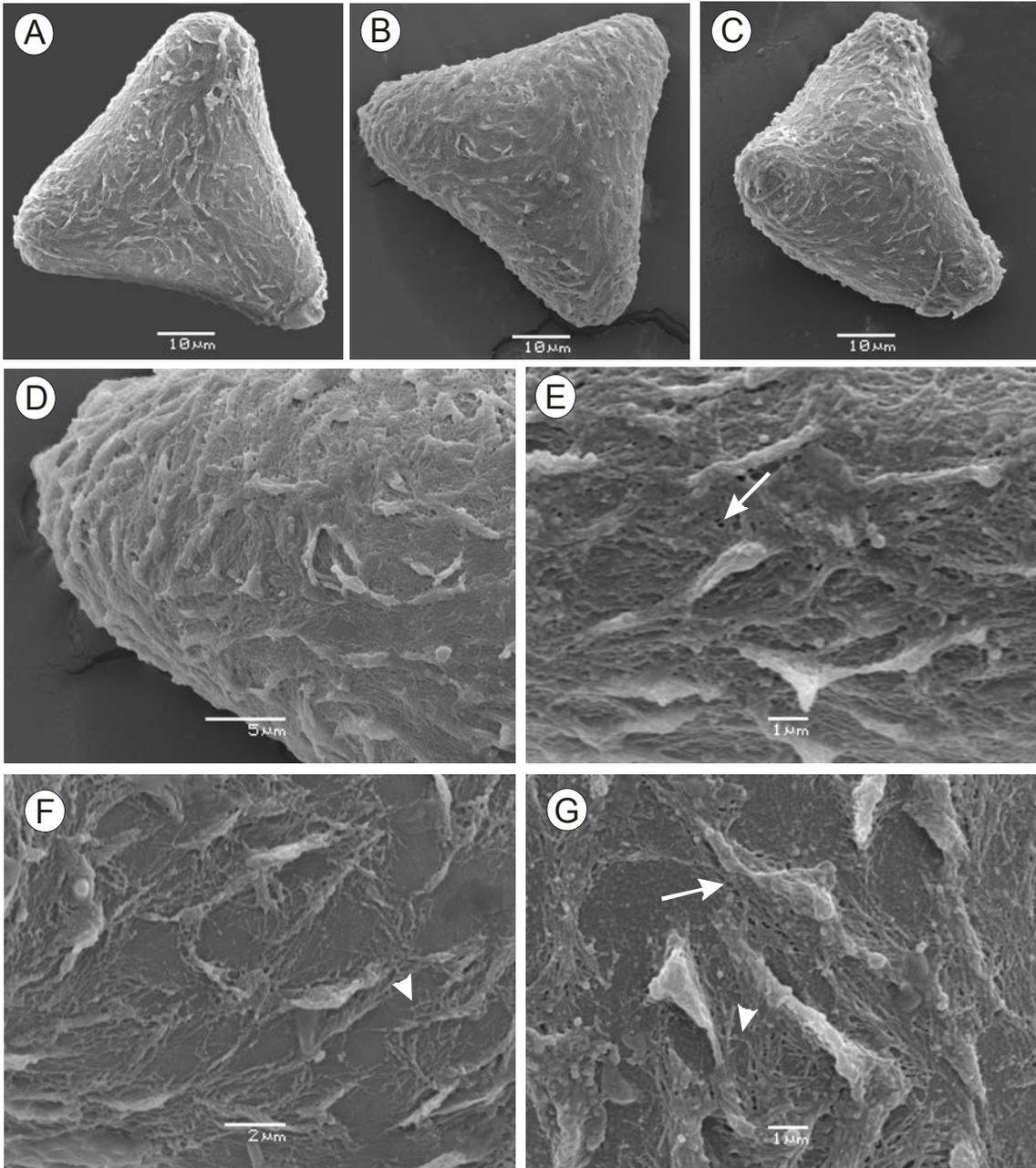


Lámina 4

#### 4. 1. 2. Ultraestructura

El perisporio presenta dos capas bien definidas y fácilmente discernibles tanto al MEB como al MET. La capa interna (Pi) está constituida por tres estratos: El estrato interno (i), de 200-250 nm de espesor, tiene aspecto alveolar y está formado por una red tridimensional de cordones. Al MET el margen externo de este estrato se observa ondulado y al MEB la superficie es microverrucosa. El estrato medio (m), de 300-400 nm de espesor, está constituido por cordones de aproximadamente 100 nm de diámetro, perpendiculares al plano superficial de la espora y en su interior tienen finos canales con contenido altamente contrastado. Estos canales se están en contacto con los estratos interno y externo. En los cortes obtenidos de material fresco fijado, las áreas delimitadas entre los cordones se encuentran rellenas por una sustancia amorfa y, en los cortes provenientes de material de herbario, se visualizan como espacios vacíos. El estrato externo (e), de 250-500 nm de espesor, está compuesto por un fino retículo, dentro de una matriz de material más uniforme y menos contrastado.

En sección la capa más externa del perisporio (Pe), de 1.0-1.5  $\mu\text{m}$  de espesor, está formada por cordones circulares en sección, curvados helicoidalmente y entrelazados de manera tal que pueden formar manojos. De acuerdo con el plano de sección, pueden observarse cavidades en la base de algunos lomos. Esta capa externa constituye la ornamentación.

En *Alsophila setosa*, el margen de la capa externa (Pe) del perisporio es irregular. Estas irregularidades están formadas por la unión de varios cordones y se corresponderían con las microverrugas vistas al MEB. Las interrupciones observadas al MET en el margen estarían relacionadas con las perforaciones superficiales.

En todos los especímenes estudiados, algunas esporas presentaron esferoides sobre la superficie o en el interior del perisporio. Estos cuerpos esféricos tienen un centro menos

electrodensos, con características similares al exosporio, cubierto por una pared de material más oscuro, con características similares a las del perisporio.

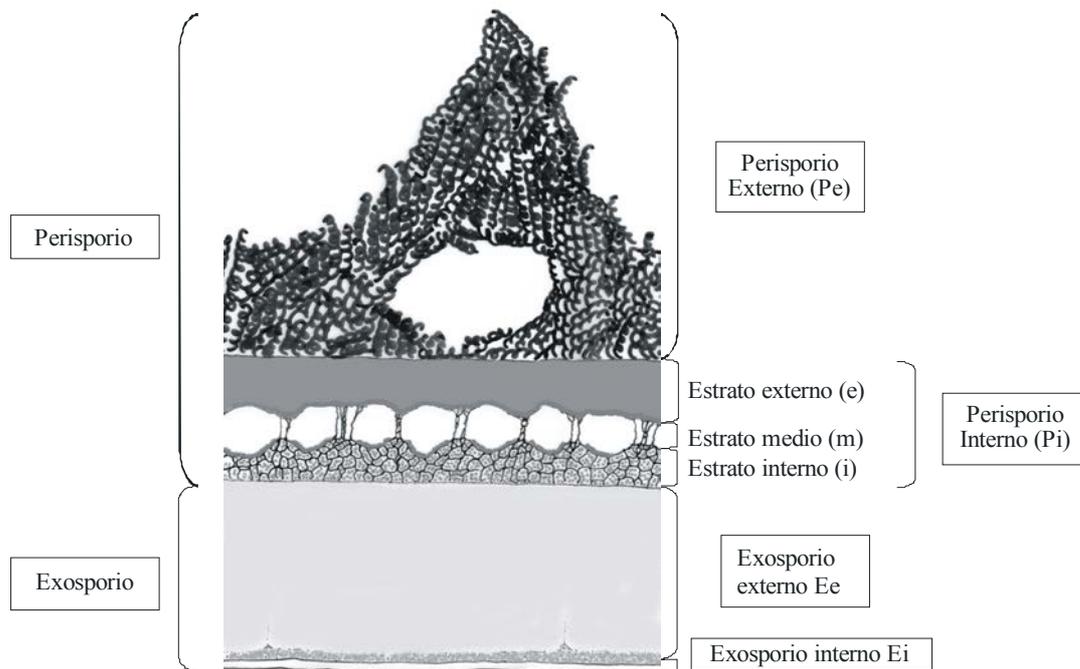


Figura 1. Estructura de la esporodermis de Alsophila

En el exosporio, se pueden diferenciar dos capas al MET. La interna (Ei) es delgada y está más desarrollada en la base de la lesura. La externa (Ee) es menos densa a los electrones y tiene mayor grosor, observándose una relación Ee/Ei de 4:1. La ultraestructura de las capas es compacta y poco discernible. Dependiendo del plano de sección se pueden observar canales radiales, simples o ramificados y cavidades con contenido contrastado, particularmente hacia el interior de Ee. Canales y cavidades son más evidentes a los lados de la lesura.

### **Lámina 5. Ultraestructura de la esporodermis de *Alsophila* con MEB y MET**

**A.** Fractura de la esporodermis de *A. capensis* al MEB con un detalle del perisporio interno (Pi) y el externo (Pe); **B.** Fractura de la pared de *A. sternbergii* al MEB donde se observa el perisporio interno (Pi), con la superficie microverrucosa (círculo) y el externo (Pe); **C.** Fractura de la esporodermis de *A. odonelliana* al MEB mostrando los muros (flechas) que conforman el estrato medio (m) del perisporio interno; **D.** Sección al MET de la esporodermis de *A. odonelliana*. Se distinguen el exosporio interno (Ei), el exosporio externo (Ee), el perisporio interno (Pi) y el perisporio externo (Pe). A los lados de la lesura (L) se observan canales (puntas de flechas blancas y negras); **E.** Sección al MET de la esporodermis de *A. odonelliana* que muestra el exosporio interno (Ei), el exosporio externo (Ee) y el perisporio externo (Pe). Se diferencian los tres estratos del perisporio interno (interno, i; medio, m; externo, e). En Pe se distinguen cordones agrupados en forma de manojos (punta de flecha). Barra: A y B: 2  $\mu\text{m}$ ; C, D y E: 1  $\mu\text{m}$

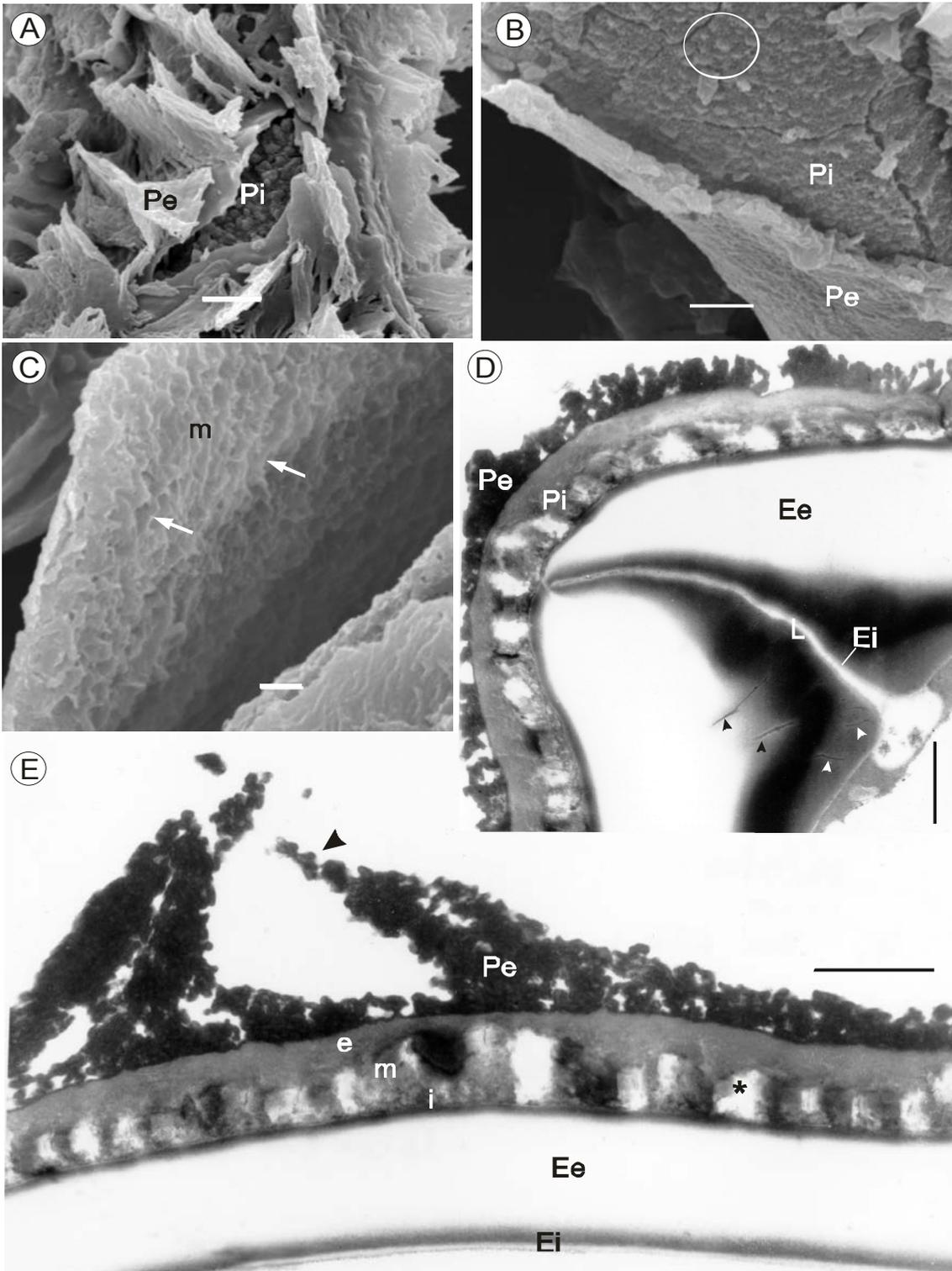


Lámina 5

**Lámina 6. Ultraestructura de la esporodermis de *Alsophila* con MEB y MET**

**A, B y C.** Fractura de la pared de *A. setosa* al MEB. Detalles del perisporio interno (Pi) y externo (Pe); **D.** Sección al MET de la esporodermis de *A. odonelliana* donde se distinguen el exosporio (E), el perisporio externo (Pe) y se diferencian los tres estratos del perisporio interno (interno, **i**; medio, **m**; externo, **e**). Las flechas marcan los cordones, las puntas de flecha los manojos de cordones y el asterisco una cavidad por debajo de dos lomos. Barras: A y B: 2  $\mu\text{m}$ ; C y D: 1  $\mu\text{m}$

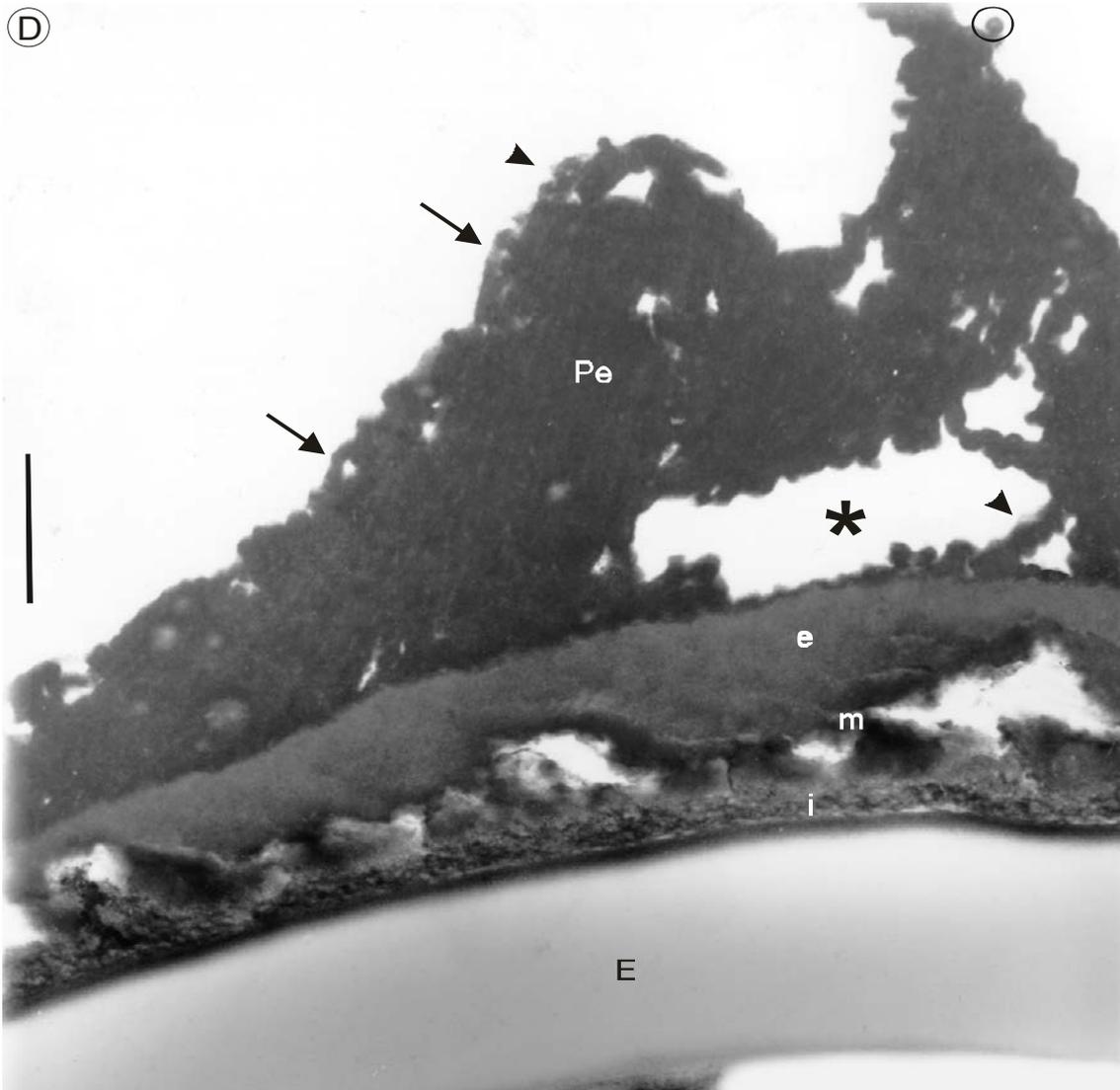
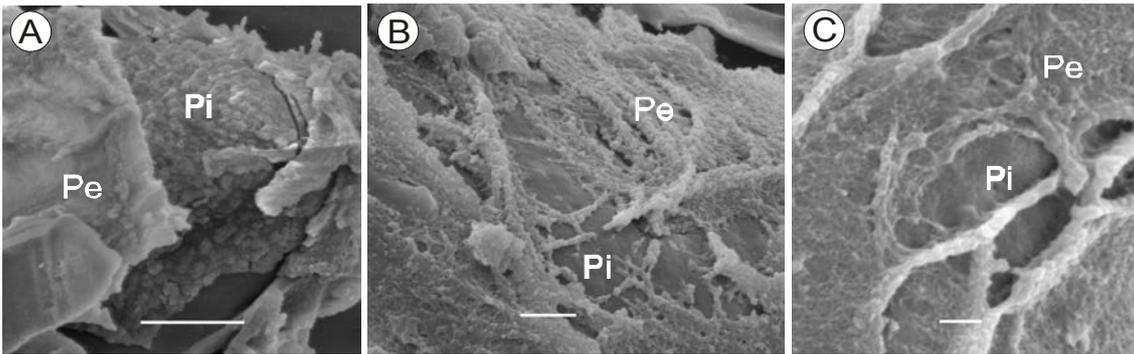


Lámina 6

**Lámina 7. Ultraestructura de la esporodermis de *Alsophila* con MEB y MET**

**A.** Fractura de la esporodermis de *A. odonelliana* al MEB. Se distingue el perisporio interno (Pi), con la superficie microverrucosa (círculo) y el externo (Pe); **B.** Sección de la pared de *A. odonelliana* al MET. Se observa un glóbulo (G) y se diferencian el exosporio (E), el perisporio interno (Pi) y el perisporio externo (Pe); **C.** Sección del perisporio interno de *A. odonelliana* al MET donde se distinguen los tres estratos que lo componen (interno, **i**; medio, **m**; externo, **e**). Las flechas muestran los canales del estrato medio. El círculo demarca una microverruga en sección. Pe: perisporio externo.

Barra: A y B: 1  $\mu\text{m}$ ; C: 0,5  $\mu\text{m}$

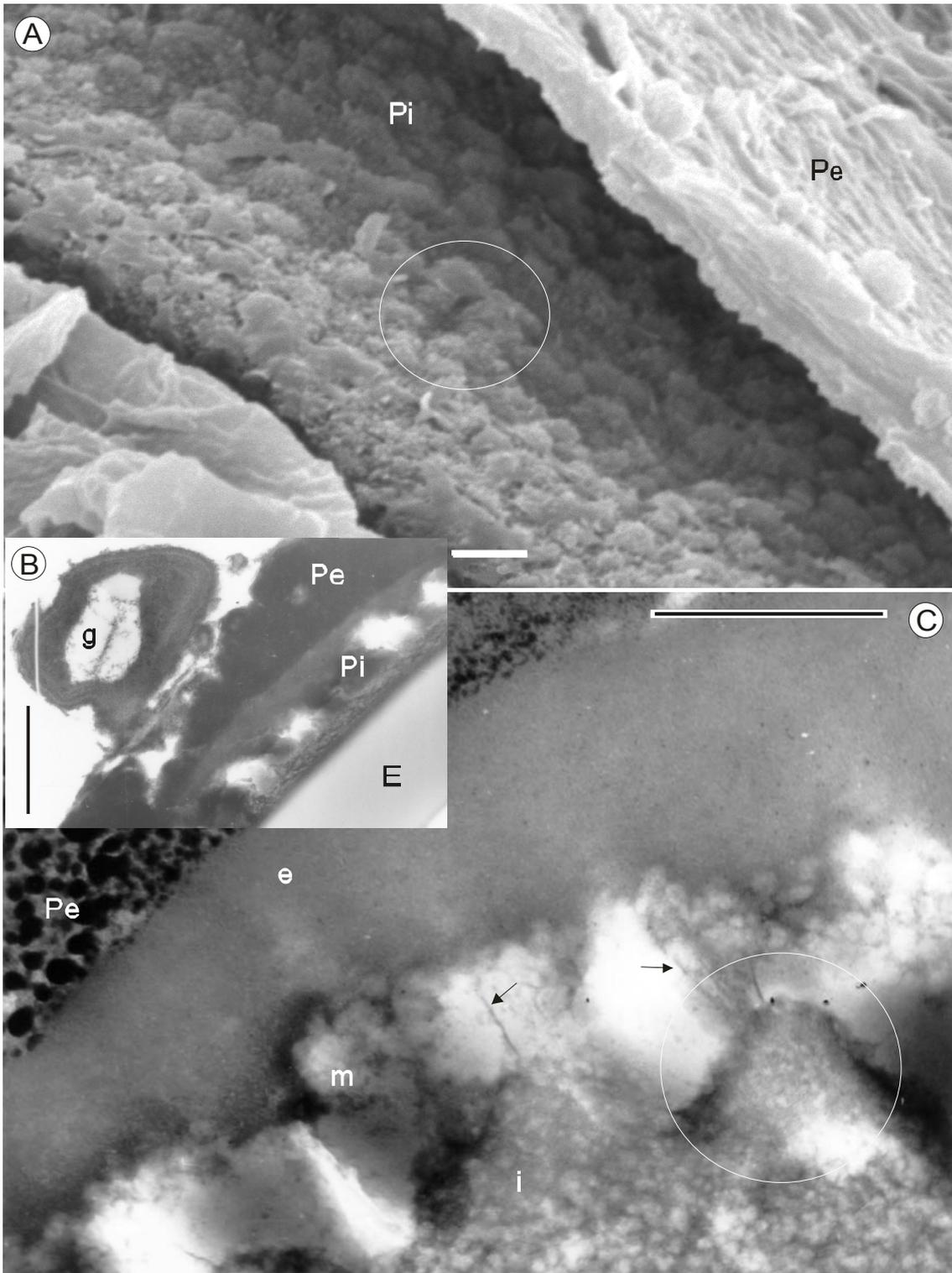


Lámina 7

**Lámina 8. Ultraestructura de la esporodermis de *Alsophila* con MET**

**A.** Sección de la pared de *A. odonelliana* al MET donde se distinguen el exosporio (E), el perisporio externo (Pe) y se diferencian los tres estratos del perisporio interno (interno, **i**; medio, **m**; externo, **e**). Las flechas señalan los cordones; **B y C.** Sección al MET de la esporodermis de *A. setosa*. Se observan los tres estratos que componen el perisporio interno (interno, **i**; medio, **m**; externo, **e**). Las flechas señalan los canales internos de los muros del estrato medio y el asterisco las áreas entre muros. Los rectángulos demarcan los cordones que conforman el perisporio externo (Pe) y las puntas de flechas negras las interrupciones superficiales. Se observa un glóbulo (punta de flecha blanca) en el interior del perisporio externo. E: exosporio. Barra: **A.** 500 nm; **B-C.** 1  $\mu$ m

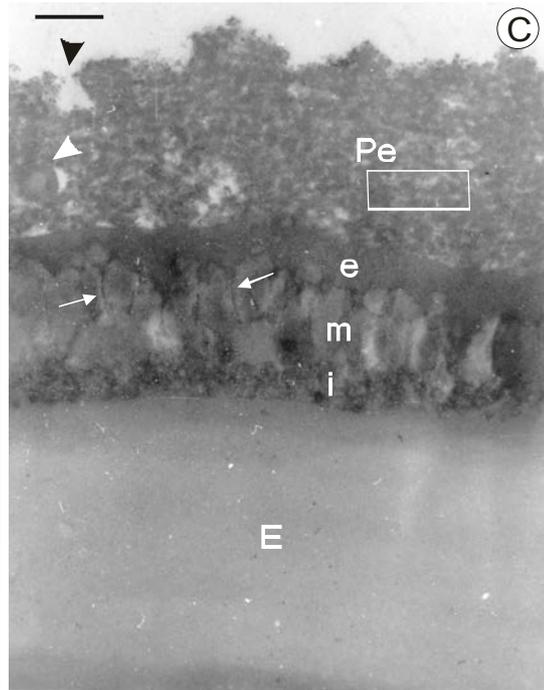
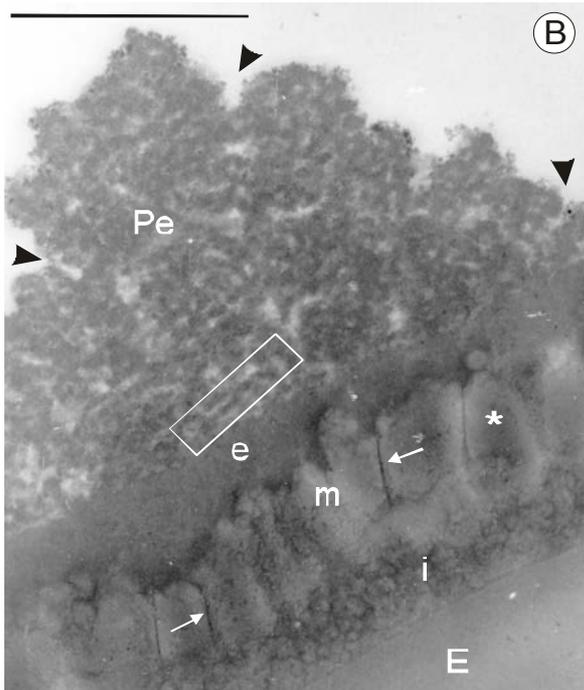
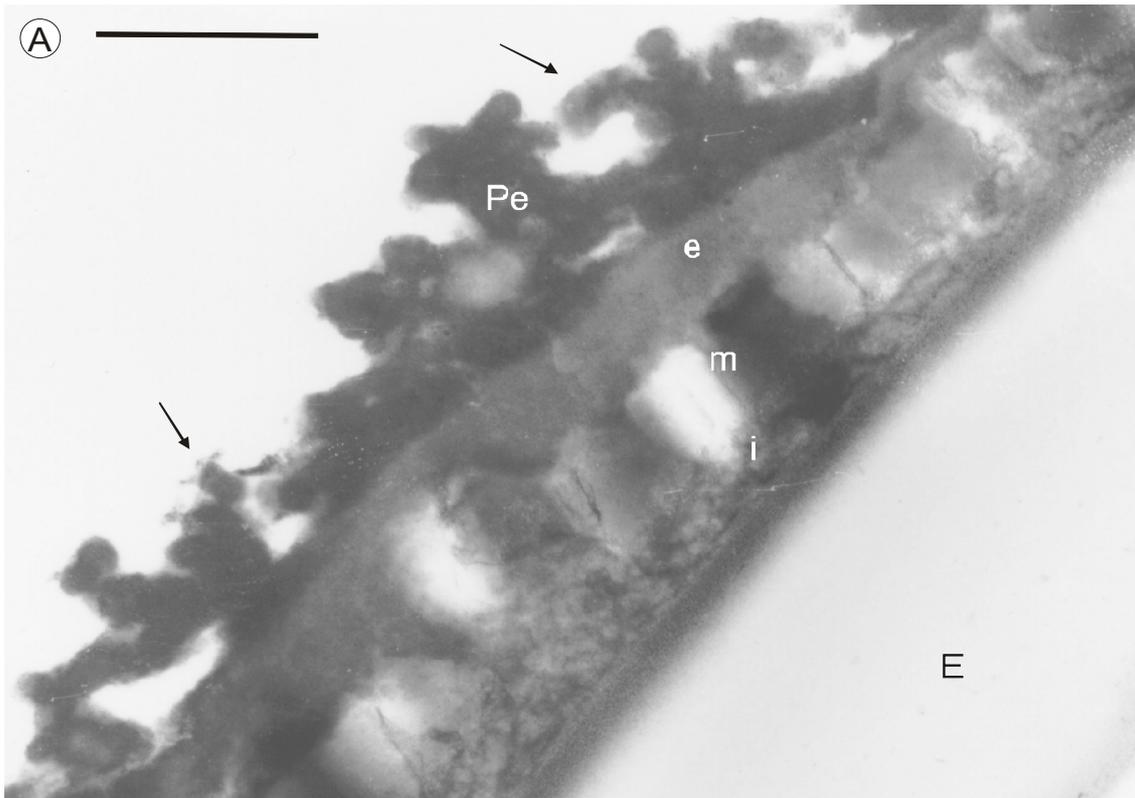


Lámina 8

#### 4. A. 3 Discusión

Las especies de *Alsophila* presentes en el Cono Sur producen esporas con lomos romos o lomos-crestados. Estas observaciones se corresponden con los datos obtenidos por diversos autores para las especies del Nuevo Mundo (Erdtman & Sorsa, 1971; Gastony, 1973; Murillo & Bless, 1974; Conant, 1983; Lorscheitter et al., 1999) y las especies del Viejo Mundo (Gastony, 1974; Gastony & Tryon, 1976; Liew & Luang, 1976; Braggins & Large, 1990; Tryon & Lugardon, 1991).

La forma, margen y grado de fusión de los lomos aportan información de valor que puede ser utilizada con fines sistemáticos. En base a las características de la escultura se pueden reconocer dos patrones bien definidos: esporas con lomos cortos fusionados, pudiendo formar un retículo, presentes en *A. setosa* y esporas con lomos crestados, presentes en el resto de las especies. Dentro de este último grupo se pueden identificar tres tipos: lomos crestados alargados y paralelos a los lados, presentes en *A. odonelliana*; lomos crestados largos con margen equinado y orientación curvada desde el centro a los lados, presentes en *A. capensis*; y lomos crestados cortos con márgenes irregulares, distribuidos al azar, presentes en *A. sternbergii*.

De acuerdo con los datos obtenidos de la observación con diferentes microscopios, la escultura de las esporas en todos los taxa analizados está formada por la capa externa del perisporio. Los cordones observados con MET en esta capa, de sección circular y enroscados sobre si mismos, serían los cordones observados en superficie al MEB. Estos conforman ultraestructuralmente la capa externa del perisporio.

De acuerdo a las características de los esferoides y las láminas aplanadas lisas encontradas sobre la superficie de las especies estudiadas, se considera que ambas estructuras no serían parte de la ornamentación. Tryon & Lugardon (1991) relacionaron la presencia de la superficie aplanada con estadios tempranos en el desarrollo de las

esporas. Como resultado de las observaciones realizadas con MET, se puede afirmar que los esferoides encontrados en la superficie se corresponderían con “glóbulos”, tal como fueron definidos por Lugardon (1981) y Tryon & Lugardon (*l. c.*). Estos autores consideran a los glóbulos homologables a los cuerpos de Uebisch de los granos de polen de Gimnospermas y Angiospermas.

Al MET se observa que el exosporio está formado por dos capas bien definidas y es semejante al tipo denominado por Lugardon (1974) como “blechnoide”. Este tipo de exosporio se caracteriza por poseer una capa interna fina y una externa más desarrollada que presenta un estrato profundo con abundantes canales y cavidades, denominado “estrato fisurado”.

En base a características químicas y estructurales se pueden identificar dos capas dentro del perisporio. La capa interna presenta tres estratos bien diferenciados. La capa externa esta formada por cordones enrollados helicoidalmente que, en algunos casos, se pueden unir formando manojos. Esta interpretación difiere de la expuesta por Tryon & Lugardon (*l. c.*), quienes mencionan un perisporio complejo de tres capas. La capa externa definida por los autores es la misma que la descrita en esta tesis. Sin embargo la capa media es homologable al estrato externo y la capa interna está formada por los estratos medio e interno.

El margen irregular observado al MET en la capa superficial del perisporio de *A. setosa* se considera que es la superficie microverrucosa vista al MEB, y que es característica de esta especie. Estas microverrugas tienen la misma ultraestructura que el resto de la capa superficial y estarían formadas por la unión de los extremos de los cordones que conforman ultraestructuralmente esta capa.

Según se interpreta de los resultados obtenidos en material fijado proveniente de especímenes de herbario, los espacios presentes entre los cordones del estrato medio

observados al MET serían remanentes de cámaras preexistentes. Esta conclusión se infiere de las observaciones hechas sobre esporas fijadas procedentes de material fresco, en las cuales estos espacios están completamente rellenos con una sustancia amorfa.



- ★ *Alsophila capensis*
- ✦ *Alsophila odonelliana*
- *Alsophila setosa*
- *Alsophila sternbergii*

**Mapa 1.** Distribución de las especies de *Alsophila* en el Cono Sur.

# Género *Cyathea*



## 4. 2. Género *Cyathea*

### 4. 2. 1. Morfología general de las esporas del género

Las esporas de *Cyathea* son triletes y triangulares en vista polar, con los lados generalmente cóncavos y los ángulos redondeados. En vista ecuatorial son plano-hemisféricas a convexo-hemisféricas. Las lesuras son rectas y generalmente no llegan hasta el ecuador.

La esporodermis de afuera hacia dentro está constituida por un perisporio delgado, de 0.3-0.6  $\mu\text{m}$  de grosor y al MO es castaño oscuro. Este, en todos los casos está formado por una red tridimensional de cordones con los extremos distales libres o unidos formando pequeñas espinas de tamaño variable. Estos cordones pueden ser lisos o presentar una superficie irregular.

El exosporio es de 1.5-3.2  $\mu\text{m}$  grosor y al MO es amarillo. La superficie, puede ser psilada, perforada o verrucosa. En todas las especies se observan perforaciones en los márgenes de las lesuras.

***Cyathea atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domin**, Pteridophyta 262. 1929.

*Polypodium atrovirens* Langsd. & Fisch., Icon. Filic. 12, t 14. 1810. Holotipo: Brasil, Ilha de Santa Catarina, Langsdorff (LE; Isotipo: BM).

Descripción del esporofito:

Rizoma simple, de hasta 6 m de altura y 10-25 cm de diámetro, con bases de los pecíolos persistentes y raíces adventicias envolviéndolo. Las frondes superan los 3 m long. Pecíolos en relación 1:2 con respecto a la lámina, castaño-oscuros, con espinas de 0,5 cm long; escamas de la base de los pecíolos castaño-claras, lanceoladas, base peltada, de 1-3.5 cm long, margen lacerado a entero. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, papiráceas a coriáceas; raquis glabros, con espinas pequeñas o tubérculos. Costa, cóstulas y venas glabras o con pocos tricomas y con escamulas aplanadas a globulosas, blanquecinas o castañas, en la cara abaxial. Pinnas alternas, de 30-45 cm long, cortamente pecioladas. Pínnulas sésiles a cortamente pecioluladas con borde serrado a crenulado. Venas fértiles y estériles generalmente simples. Soros medios, sin indusio, parafisos iguales o más largos que los esporangios.

Distribución:

ARGENTINA: Provincias de Corrientes y Misiones. BRASIL: Estados de Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Río Grande do Sul, Santa Catarina y São Paulo. PARAGUAY: Departamentos de Alto Paraná, Amambay, Caazapá, Caaguazú, Canindeyú, Central, Cordillera, Guaira, Itapúa y San Pedro. URUGUAY: Departamento de Rivera.

Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 43.2-(54.0)-57.2  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 42.3-(48.1)-55.6  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 41.5-(44.0)-48.1  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 2-2.8  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 0.6  $\mu\text{m}$

Vista al MEB, la superficie de las esporas de esta especie presenta una red tridimensional de cordones entrelazados (Lam 9; Figs. A-D). En algunos casos, los extremos de estos cordones pueden fusionarse y formar espinas (Lam 9; Fig. E). Observando fracturas de la esporodermis con MEB se puede distinguir que el perisporio presenta dos capas (Lam 9; Fig. F), una externa (P1e) conformada por cordones y una interna (P1i) de superficie granular.

El exosporio es psilado (Lam 9; Figs. G-H). Solamente se observan perforaciones en el margen de las lesuras.

**Lámina 9. Esporas de *Cyathea atrovirens***

**A.** Vista proximal, mostrando la superficie cubierta por cordones; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial; **D.** Detalle de la superficie, donde se observan cordones entrelazados con los extremos libres; **E.** Detalle de la superficie. Se advierte que los extremos algunos cordones se fusionan, formando pequeñas espinas (círculo); **F.** Fractura a la altura del ecuador. Se pueden distinguir los dos estratos del perisporio interno: interno (P1i) y externo (P1e); **G.** Vista proximal de una espora desprovista de perisporio, que pone de manifiesto la superficie lisa del exosporio y las perforaciones cercanas a las lesuras (flecha); **H.** Fractura en la unión de las lesuras. Se indican las perforaciones cercanas a las lesuras (flecha).

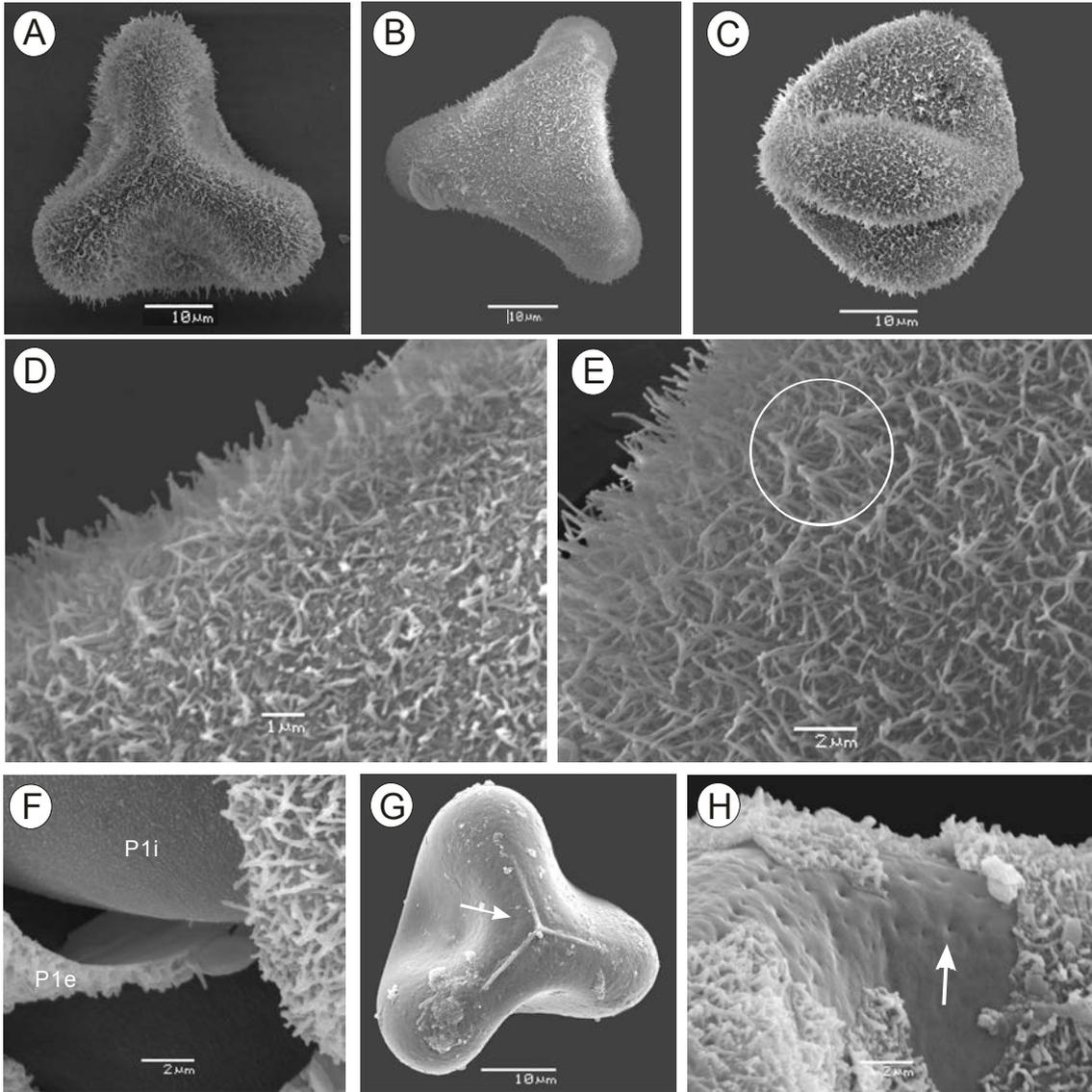


Lámina 9

***Cyathea corcovadensis* (Raddi) Domin, Pteridophyta 262. 1929.**

*Polypodium corcovadensis* Raddi, Opusc. Sci. Bol. 3: 288. 1819. Holotipo: Brasil, Raddi (FI; Isotipo: in vertiu montis Corcovado, P).

Descripción del esporofito:

Rizoma simple, generalmente de 0.5 m de altura, aunque algunos ejemplares pueden llegar a 6 m, 7-26 cm de diámetro, con bases de los pecíolos persistentes o raíces adventicias envolviéndolo. Frondes de hasta 2.7 m long. Pecíolos en relación 1:2 con respecto a la lámina, pardos a castaño-oscuros, con tubérculos y espinas; escamas de la base de los pecíolos persistentes, castaño-claras, concolores, lanceoladas, de 1-4.5 cm long, margen lacerado. Láminas 2-pinnadas, papiráceas a coriáceas, glabras, con pinna apical conforme. Raquis, costa y cóstulas glabras o con pocos tricomas; cóstulas generalmente con escámulas aplanadas a globosas, blanquecinas o castañas, en la cara abaxial. Pinnas articuladas al raquis, alternas, de 17-60 cm long, largamente pecioluladas. Pínnulas pecioluladas, borde entero, crenulado, serrado, lobado o pinnatífido. Venas fértiles simples, estériles simples o furcadas. Soros inframedios, usualmente en una línea media simple a cada lado de la costa, sin indusio, parafisos iguales o más largos que los esporangios.

Distribución:

BRASIL: Estados de Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Río Grande do Sul, Santa Catarina y São Paulo.

Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 46.5-(54.0)-59.0  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 42.3-(51.5)-54.8  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 34.9-(42.3)-45.7  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 2.5-3.4  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 0.5  $\mu\text{m}$

La superficie al MEB está formada por una red de cordones entrelazados que pueden tener los extremos libres o fusionados (Lam 10; Figs. A-C), formando espinas (Lam 10; Figs. D-E). La superficie de estos puede ser lisa o irregular (Lam 10; Figs. F, J). La Figura G muestra una fractura del perisporio donde se observa el estrato externo del perisporio P1e, formado por cordones, y el estrato interno P1i, de aspecto granular.

El exosporio presenta la superficie finamente perforada. El diámetro de dichas perforaciones es más o menos uniforme, salvo las que se localizan a los lados de los márgenes de las lesuras, que son de mayor tamaño y se encuentran en depresiones (Lam 10; Figs. H-I).

**Lámina 10. Esporas de *Cyathea corcovadensis***

**A.** Vista proximal, con cordones superficiales; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial; **D.** Detalle de la superficie distal. Se distinguen cordones largos entrelazados, con los extremos libres; **E.** Detalle de la superficie ecuatorial. Los extremos de algunos cordones se fusionan, formando pequeñas espinas (círculo); **F.** En este detalle se observan cordones del perisporio con la superficie irregular; **G.** Fractura del perisporio que pone de manifiesto la superficie perforada del exosporio (punta de flecha) y los estratos del perisporio interno: interno (P1i) y externo (P1e); **H.** Vista proximal de una espora desprovista de perisporio que muestra la superficie perforada del exosporio. Se indican las perforaciones cercanas a las lesuras (flecha); **I.** Detalle de Fig. H donde se observan las perforaciones de la superficie; **J.** Detalle de los cordones del perisporio con superficie lisa.

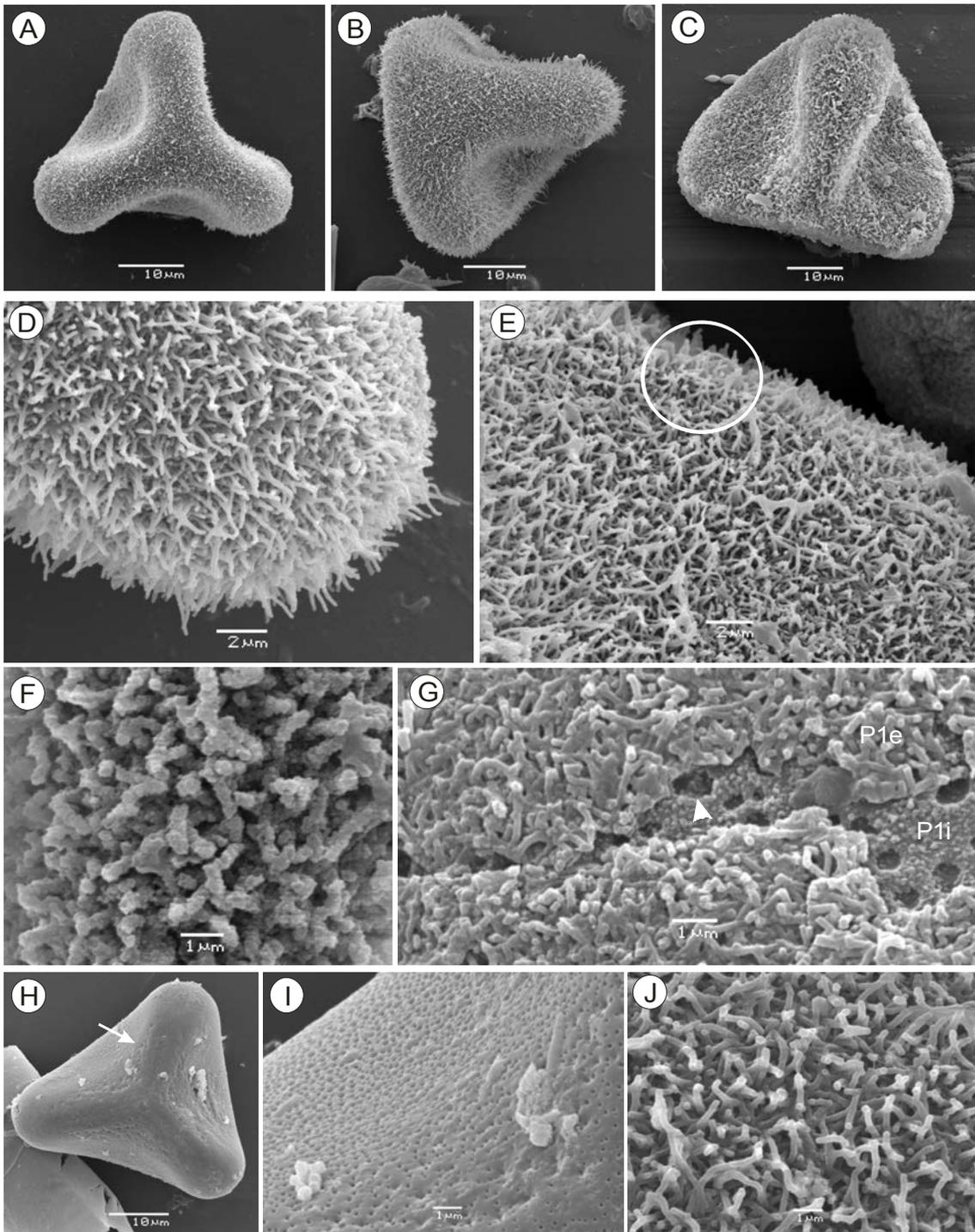


Lámina 10

*Cyathea delgadii* Sternb., Flor. Der Volwelt 1:47, t. B. 1820. (también Flor. Monde Prim. 4:51, t. B. 1826). Holotipo: Rancho do Geneale Delgado in via ad Caldas Novas, Goiás, Brasil, *Pohl* s/n (PRC; fragmento *ex* PRC, GH; fragmento *ex* L, US probablemente de la misma colección).

Descripción del esporofito:

Rizoma simple, de 0.50-7 m de altura y 5-15 cm de diámetro, cicatrices foliares planas, raramente con bases foliares persistentes. Frondes 1-3.5 m long. Pecíolos en relación 1:2 con respecto a la lámina, castaño-oscuros, con tubérculos o pequeñas espinas; escamas de la base del pecíolo castaño claras a ferrugíneas, aovado-lanceoladas, base peltada a truncada, de 1.5-3.5 cm. long, células del margen diminutas (semejando un borde entero). Láminas 2-pinnado-pinnatífidas; raquis con espinas menores a las del pecíolo; costa y cóstulas con escámulas planas y triangulares, castañas. Pinnas alternas, de 20-74 cm. long. Pinnulas sésiles o cortamente pecioluladas. Nervaduras generalmente bifurcadas. Soros medianos, indusios globosos, persistentes, que se rompen a la madurez; parafisos más cortos que los esporangios.

Distribución:

ARGENTINA: Provincia de Corrientes. BRASIL: Estados de Bahia, Ceará, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Río Grande do Sul, Roraima, Santa Catarina y São Paulo. PARAGUAY: Departamentos de Cordillera, Itapúa, Paraguari y San Pedro.

Otros países: BOLIVIA, COLOMBIA, COSTA RICA, ECUADOR, GUYANA, NICARAGUA, PANAMA, PERU y VENEZUELA.

Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 40.0-(42.3)-45.7  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 39.0-(43.2)-44.8  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 32.0-(35.7)-39.0  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 2.9-3.7  $\mu\text{m}$  (verrugas) y 1.6-2.4  $\mu\text{m}$  (valles)

Espesor del perisporio: 0.3  $\mu\text{m}$

El perisporio presenta una red tridimensional de cordones con los extremos distales libres o fusionados (Lam 11; Figs. A-C). Los cordones que se encuentran entre las verrugas están dispuestos de manera laxa y los que están en la cima de estas y sobre las lesuras están organizados de manera compacta. Se pueden observar cordones con superficies lisas o irregulares (Lam 11; Figs. D-G). Por debajo del estrato externo P1e formado por cordones, se distingue el estrato interno P1i, visible claramente en la Figura I.

El exosporio es verrucoso y las verrugas pueden fusionarse para formar estructuras más complejas, similares a muros cortos. Se observan verrugas orientadas de forma paralela a los lados de las lesuras, pero no sobre estas. La superficie de las verrugas es lisa (Lam 11; Figs. H-J) y en la base de estas se observan perforaciones (Lam 11; Figs. H, J) y elementos estructurales que comunican a las verrugas entre sí.

**Lámina 11. Esporas de *Cyathea delgadii***

**A.** Vista proximal, con la superficie verrucosa cubierta de una red de cordones; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial; **D.** y **E.** Detalle de la superficie distal. Se observan cordones largos dispuestos de manera laxa entre las verrugas y más compactos sobre estas; **F.** y **G.** Detalle de la superficie proximal, donde se observan los cordones del perisporio con la superficie irregular; **H.** Este detalle muestra la superficie verrucosa del exosporio, aparentemente desprovista de perisporio o con partes del estrato interno P1i. Las verrugas tienen la superficie lisa y presentan perforaciones en la base (flecha); **I.** Fractura de la esporodermis donde se observa el estrato interno del perisporio (P1i) y el margen liso de las verrugas del exosporio; **J.** Detalle del exosporio verrucoso, con restos de perisporio y perforaciones en la base de las verrugas (flecha).

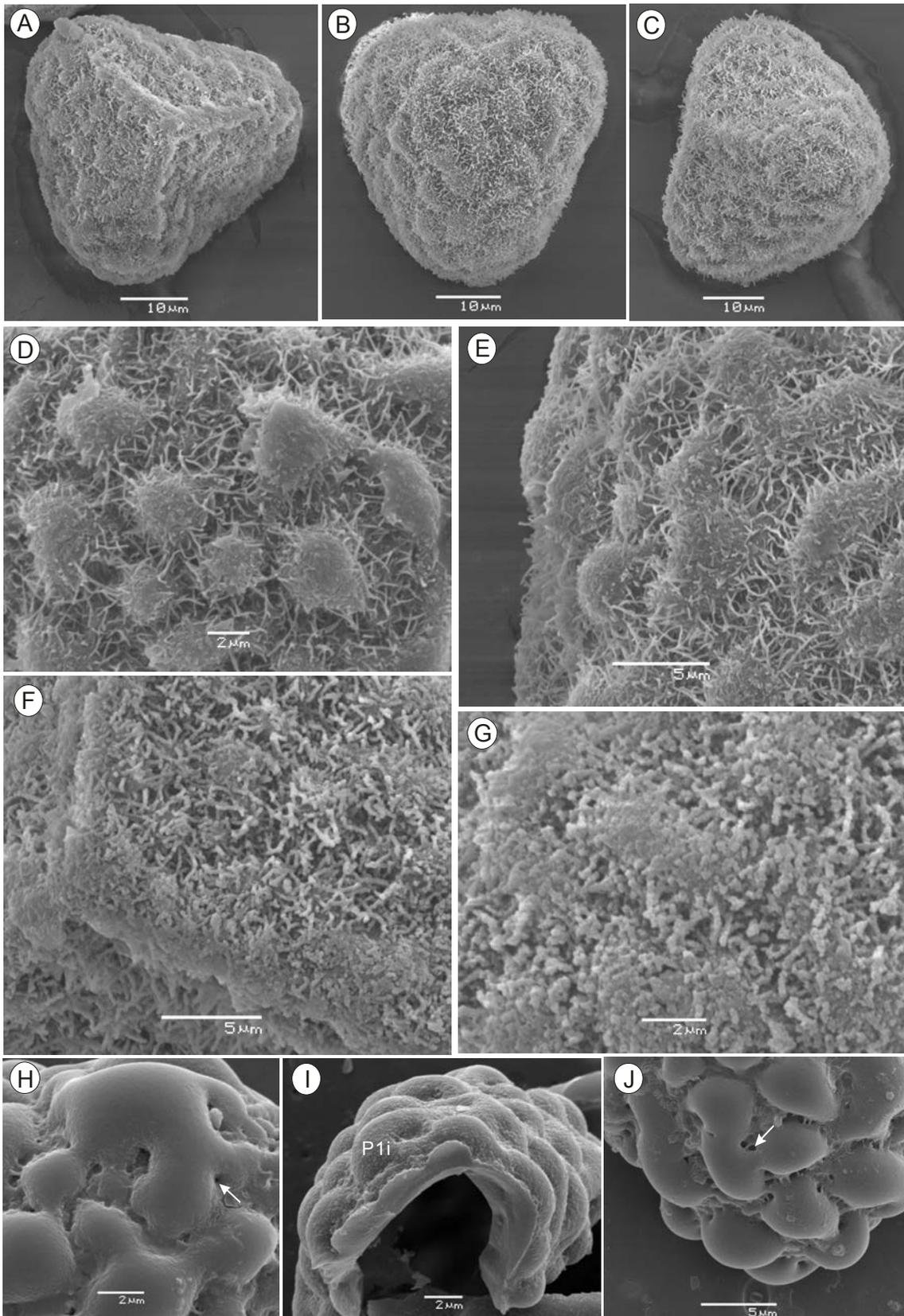


Lámina 11

*Cyathea hirsuta* Presl, Delic. Prag. 190. 1822. Holotipo: Brasil, Río de Janeiro, Corcovado, *Pohl s/n* (PR o PRC, fragmento NY).

Descripción del esporofito:

Rizoma simple, generalmente de poca altura o hasta los 12 m y 3.5-7 cm de diámetro, con cicatrices foliares evidentes rodeadas de escamas semejantes a las del pecíolo. Las frondes de hasta 3.5 m long. Pecíolos en relación 1:3 con respecto a la lámina, amarillos o castaños, con espinas de 0.5 cm long.; escamas de la base de los pecíolos persistentes, blanquecinas, concolores, lanceoladas, de 1.5-3.5 cm long, margen con setas oscuras contiguas. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, cartáceas, glabras, ejes foliares amarillos. Raquis, costa y cóstulas generalmente hirsutos en ambas caras; costas y cóstulas con escámulas, aovadas, elipsoides o romboidales aplanadas o infladas con ápice filamentoso largo, blanquecinas a castañas, en la cara abaxial. Pinnas opuestas, de 33-70 cm long, sésiles a cortamente pecioluladas. Pínnulas sésiles, venas bifurcadas. Soros medianos, furcados, sin indusio; escámulas infladas sobre la vena, próximas a la base del receptáculo; parafisos iguales o más largos que los esporangios.

Distribución:

BRASIL: Estados de Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina y São Paulo.

Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 34.0-(39.0)-41.5  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 29.0-(32.4)-34.9  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 21.6-(24.9)-28.2  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 1.2-1.9  $\mu\text{m}$

El perisporio se manifiesta como un depósito discontinuo granular, sobre la superficie del exosporio (Lam 12; Figs. A, D, E). Se observan pequeños esferoides obstruyendo algunas de las perforaciones del exosporio (Lam 12; Figs. F-H)..

El exosporio es perforado, con perforaciones que tienen diámetro uniforme y se encuentran distribuidas en toda la superficie (Lam 12; Figs. H-I). En los márgenes de las lesuras se observa una hilera continua de perforaciones de mayor diámetro y con un borde engrosado (Lam 12; Figs. E, G, I). Este tipo de perforaciones también pueden observarse en forma aislada sobre las lesuras.

**Lámina 12. Esporas de *Cyathea hirsuta***

**A.** Vista proximal, la superficie presenta un depósito granular; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial; **D.** Detalle de la superficie proximal. Se observa un depósito granular que cubre la espora; **E.** Detalle de la superficie en la unión de las lesuras. La punta de flecha señala una de las perforaciones con borde engrosado; **F.** Detalle de la superficie distal. Algunas esférulas pueden obstruir las perforaciones (flecha); **G.** Detalle en la unión de las lesuras. Las perforaciones con borde engrosado que se ubican sobre las lesuras (punta de flecha) pueden estar obstruidas por esferoides (flecha); **H.** Detalle de la superficie distal perforada. Se observan esférulas sobre algunas perforaciones (flecha); **I.** Detalle en la unión de las lesuras. Se observan perforaciones con borde engrosado sobre las lesuras (punta de flecha).

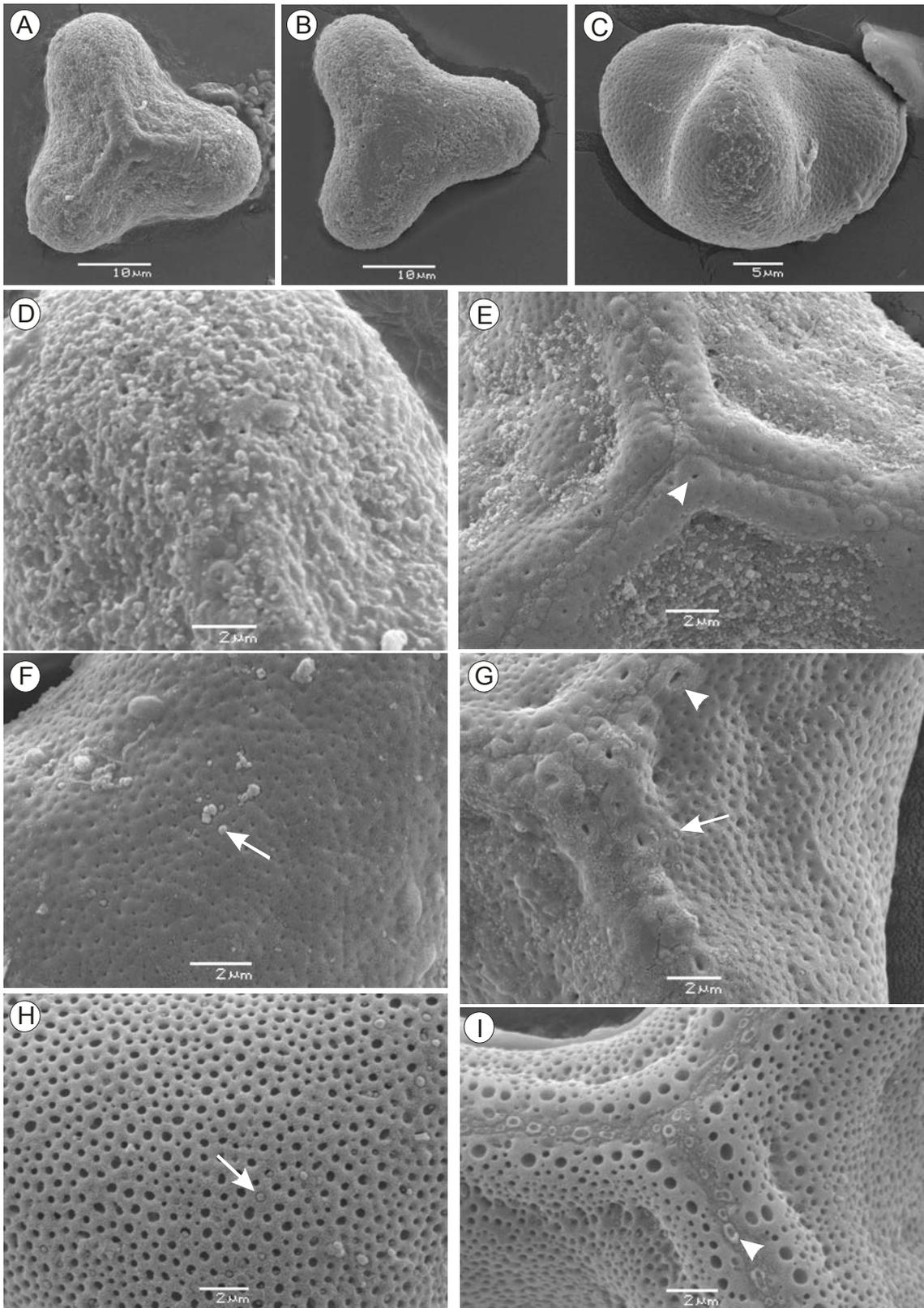


Lámina 12

***Cyathea leucofolis* Domin**, Pteridophyta 262. 1929, *nom. nov.* para *Alsophila leucolepis* Mart., 1834, *non* *Cyathea leucolepis* Mett., 1863.

*Alsophila leucolepis* Mart., Icon. Plant. Crypt. Bras. 70 t. 46. 1834, *ex icone*. Holotipo: ad Mariana & Alibi in Prov. Minarum Generalium, Brasil, *Martius*.

Descripción del esporofito:

Rizoma generalmente simple, de 1-3 m de altura y 5-10 cm de diámetro, con bases de los pecíolos persistentes o con cicatrices foliares contiguas. Frondes de hasta 2,7 m long. Pecíolos en relación 1:2 con respecto a la lámina, con espinas de 0.2-0.8 cm long; escamas de la base de los pecíolos blanquecinas, lanceoladas, base auriculada o truncada, de 2.1-4 cm long, margen entero a ligeramente lacerado. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, cartaceas; raquis con espinas menores a las del pecíolo. Cara abaxial de costa, cóstulas y venas con tricomas rudimentarios y tricomas largos, y con escámulas triangulares aplanadas a globulosas, blanquecinas o castañas. Pinnas de 35-70 cm long. Pinnulas cortamente pecioluladas, pinnatífidas. Venas fértiles y estériles furcadas o simples. Soros medios, exindusiados, parafisos rudimentarios mucho más cortos que los esporangios.

Distribución:

BRASIL: Estados de Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro y São Paulo.

Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 42.3-(44.8)-47.3  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 39.8-(41.5)-44.0  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 29.0-(31.5)-34.9  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 2.1-2.9  $\mu\text{m}$

No se observa perisporio, salvo un delgado depósito en forma de esférulas en algunos lugares de la superficie (Lam 13; Figs. A, B, E).

El exosporio presenta la superficie perforada (Lam 13; Fig. D). Las perforaciones tienen un diámetro similar y se encuentran en toda la superficie, distribuidas de manera uniforme. A cada lado de las lesuras se observa una hilera continua de perforaciones de mayor calibre a las del resto de la superficie y con un borde engrosado (Lam 13; Figs. C, E). Este tipo de perforaciones también pueden observarse en forma aislada sobre las lesuras.

En algunos ejemplares se han encontrado registros de esporas monoletes (Lam 13; Fig. F).

**Lámina 13. Esporas de *Cyathea leucofolis***

**A.** Vista de la superficie proximal; **B.** Vista distal; **C.** Detalle superficial a la altura de la lesura. Se observan perforaciones en toda la superficie del exosporio. Las perforaciones cercanas a las lesuras son de mayor diámetro (flecha); **D.** Detalle de la superficie distal, donde se observa que las perforaciones tienen un diámetro uniforme; **E.** Detalle superficial. Se advierte la superficie perforada, con perforaciones de mayor calibre y borde engrosado en el margen (punta de flecha) y sobre la lesura (flecha); **F.** Espora monolete.

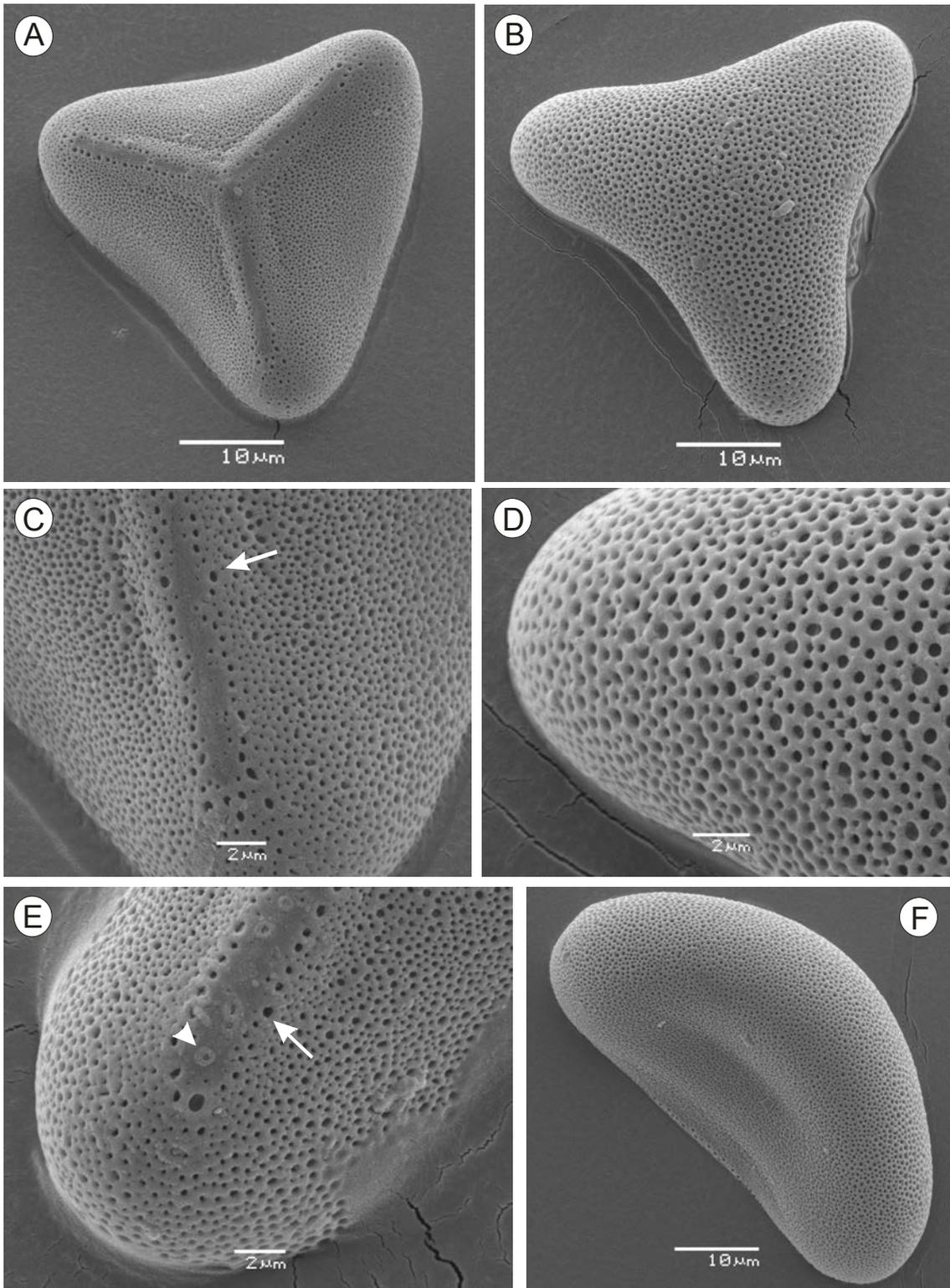


Lámina 13

*Cyathea phalerata* Mart. , Denkschr. Bot. Ges. Regensb. 2: 146 t. 2, f. 3. 1822.

Holotipo: Brasil, Martius (M; sotipos: B, BM, NY; Martius 392, fragmento ex NY, US)

Descripción del esporofito:

Rizoma simple, de 0.5-10 m de altura, 9-15 cm de diámetro, bases de los pecíolos persistentes o presentando cicatrices foliares planas con restos de bases de pecíolos. Frondes de hasta 3 m de long. Pecíolos en relación 1:2 con respecto a la lámina, pardos a castaños, con espinas de 0.1-0.7 cm long. y tubérculos; escamas de la base de los pecíolos persistentes, castañas, generalmente concolores, lanceoladas, de 1.6-4.4 cm long, margen lacerado o entero, borde con células un poco más oscuras pero sin formar setas. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, membranaceas, superficie con tricomas. Ejes de la lámina glabros a hirsutos en ambas caras; cara abaxial de costas y cóstulas con escámulas aplanadas castañas y escámulas infladas blanquecinas. Pinnas alternas, de 40-70 cm long, sésiles a cortamente pecioladas. Pínnulas sésiles a cortamente paciouladas; venas simples o bifurcadas. Soros medianos, próximos a la costa, sin indusio, parafisos dos veces más largos que los esporangios.

Distribución:

BRASIL: Estados de Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina y São Paulo.

Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 49.0-(54.0)-58.9  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 45.7-(51.5)-54.8  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 38.2-(41.5)-46.5  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 1.6-2.3  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 0.3  $\mu\text{m}$

El perisporio esta formado por una red de cordones entrelazados, con lo extremos libres (Lam 14; Figs. A-C). Se pueden observar cordones con superficies lisas o irregulares, pudiendo estar los extremos fusionados formando espínulas superficiales (Lam 14; Figs. D-E).

El exosporio presenta la superficie lisa en la cara proximal y perforada en la cara distal, con perforaciones de distinto diámetro (Lam 14; Figs. F-G). En los márgenes de las lesuras se distinguen perforaciones de menor calibre.

**Lámina 14. Esporas de *Cyathea phalerata*:**

**A.** Espora en vista proximal, con cordones del perisporio cubriendo toda la superficie; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial; **D.** Detalle superficial. Se observan cordones largos, con los extremos libres y superficie irregular; **E.** Detalle de la superficie distal. Los cordones presentan la superficie lisa; **F.** En este detalle se observa la superficie distal del exosporio, donde se distinguen perforaciones de distinto tamaño; **G.** Detalle de la superficie proximal lisa del exosporio. Las únicas perforaciones son las cercanas a las lesuras (flecha).

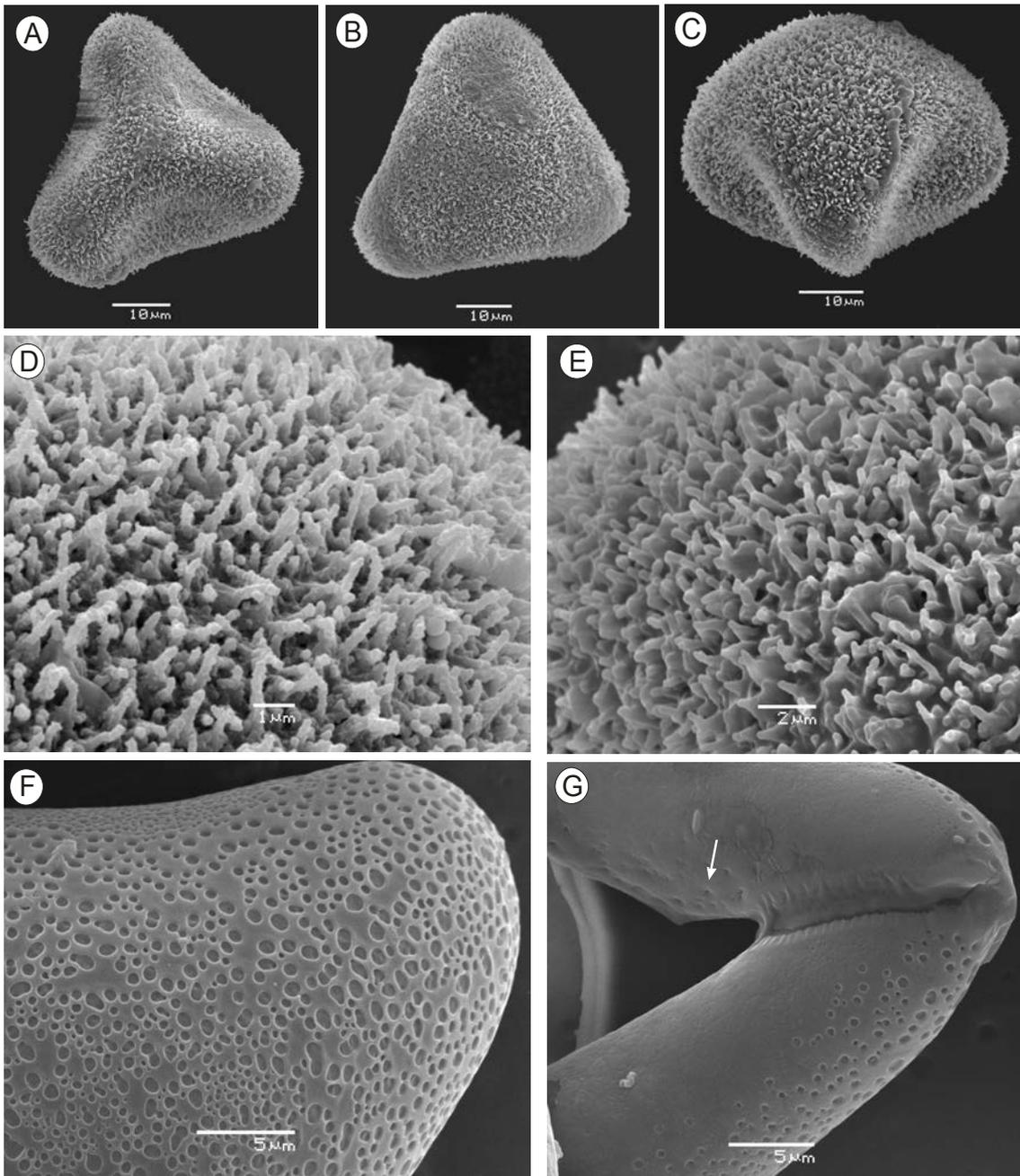


Lámina 14

*Cyathea villosa* Willd., Sp. Pl. ed. 4. 5(1): 495. 1810. Holotipo: America meridionale, ad St. Cruces & ad Caracas (Sucre, Venezuela), *Humboldt 436* (B, Herb. Willd. N° 20175; Tryon foto GH; Isotipos: F, P).

Descripción del esporofito:

Rizoma erecto o decumbente, simple, de 1.5-6 m de altura, 10-25 cm de diámetro, bases de los pecíolos persistentes y entremezcladas con raíces adventicias. Frondes de hasta 1.5 m de long. Pecíolos en relación 1:2 con respecto a la lámina, pardos a castaños, tuberculados, raramente presentan espinas; escamas de la base de los pecíolos estrechas y largas, persistentes, castaños, bicolores o concolores, lanceoladas, con el ápice acuminado y torcido helicoidalmente, de 1.3-2.8 cm long, margen muy lacerado. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, cartáceas a coriáceas, superficie generalmente vellosa. Ejes de la lámina pardos a castaño-claro, densamente vellosos a subglabros; cara abaxial de costas, cóstulas y venas secundarias con escámulas aplanadas lanceoladas a infladas, blanquecinas. Pinnas ascendentes e imbricadas, alternas, articuladas al raquis, de 12-37 cm long, sésiles a cortamente pecioladas. Pínnulas ascendentes, sésiles a cortamente pecioluladas; venas bifurcadas o simples. Soros medianos, furcados, receptáculo velloso, exindusiados, parafisos más largos que los esporangios.

Distribución:

BRASIL: Estados de Bahia, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina y São Paulo.

Descripción de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 42.3-(54.0)-55.6  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 40.7-(49.8)-50.6  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 34.9-(39.0)-41.5  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 2.1-2.8  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 0.3  $\mu\text{m}$

Esta especie presenta el perisporio formado por una red de cordones con sus extremos distales libres (Lam 15; Figs. A-C). También se observan espínulas superficiales formadas por la unión de varios cordones (Lam 15; Figs. D-E).

El exosporio presenta la superficie perforada, incluso sobre la lesura. Las perforaciones tienen mayor diámetro y son más numerosas en la cara distal, disminuyendo su diámetro y densidad en la zona cercana a las lesuras (Lam 1%; Figs. F-G). En los márgenes de las lesuras se observan hileras de perforaciones ubicadas en depresiones.

**Lámina 15. Esporas de *Cyathea villosa*:**

**A.** Vista proximal, superficie formada por cordones del perisporio; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial; **D.** y **E.** Detalles de la superficie, donde se observan cordones entrelazados, algunos con los extremos libres y otros fusionados formando pequeñas espinas (círculo); **F.** Fractura en la zona proximal. Se pueden distinguir las perforaciones de la superficie del exosporio (E) y los cordones que componen el perisporio (P); **G.** Zona proximal con perisporio desprendido. La superficie del exosporio presenta perforaciones de distinto tamaño, más pequeñas en la zona cercana a las lesuras. Se observan perforaciones en depresiones cercanas a las lesuras (punta de flecha).

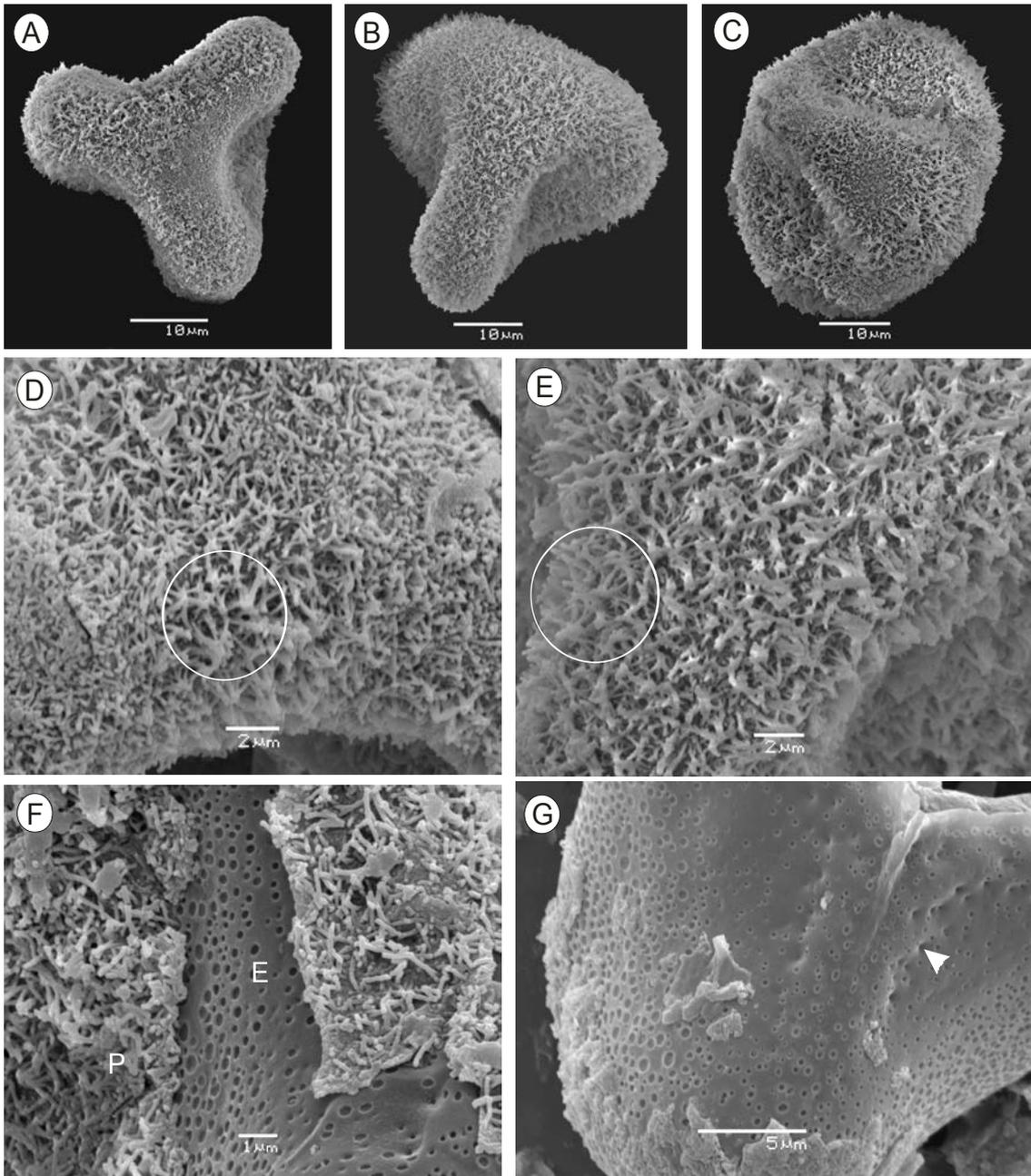
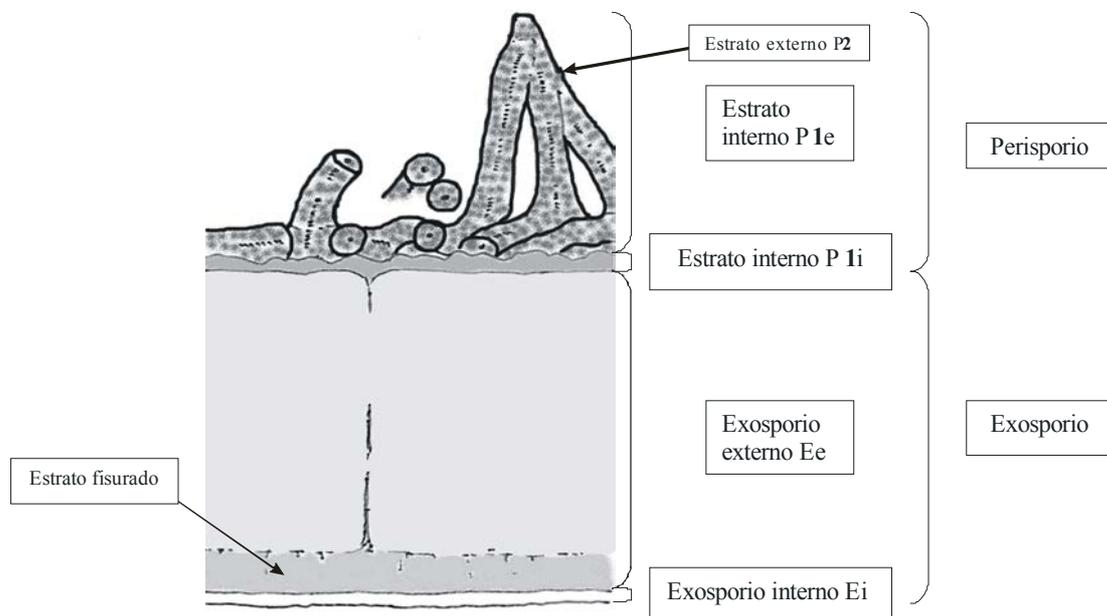


Lámina 15

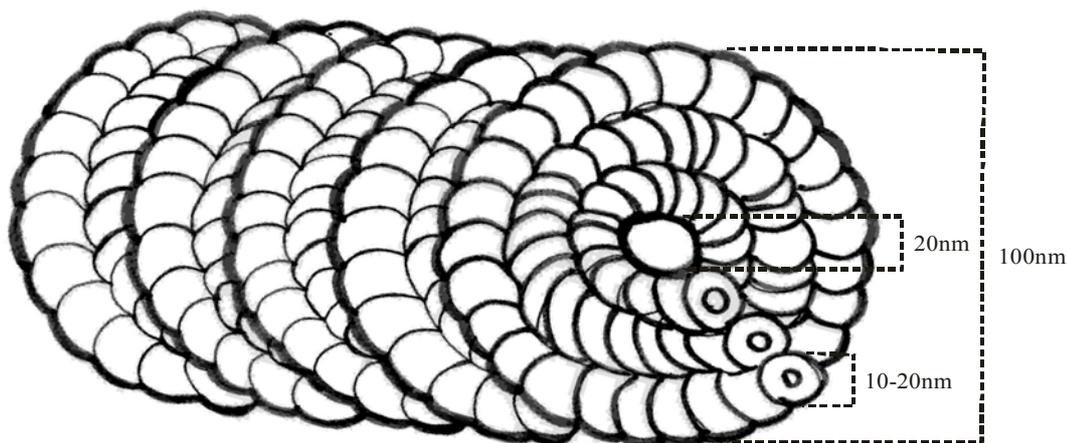
#### 4. 2. 2. Ultraestructura

El perisporio tiene un espesor de 300-500 nm. Presenta dos capas bien definidas y discernibles al MET (Esquema 2, Lám. 16, Fig. F; Lám. 18, Fig. B). La capa interna (P1) está formada por dos estratos: el estrato interno (P1i) es delgado, de 20-90 nm de espesor, de margen ondulado y más contrastado y ultraestructura homogénea, integrada por delgados cordones de 10 nm de diámetro (Lám. 18, Fig. B). El estrato externo (P1e), de 50-500 nm de espesor, está formado por una red tridimensional de cordones de sección circular de aproximadamente 100 nm de diámetro, con canales en su interior de 10-20 nm de diámetro (Lám. 18, Figs. A-B). En la base de este estrato los cordones se ordenan tangenciales a la superficie y en la parte más externa se disponen perpendiculares, donde se pueden fusionar en los extremos libres y formar espínulas (Lám. 16, Fig. F).



Esquema 2. Estructura de la esporodermis.

La subestructura de los cordones que conforman la capa P1e del perisporio es compleja (Esquema 3, Lám. 18, Figs. A-B). Cada cordón representa una unidad independiente, con uno o dos canales centrales y subunidades que se enrollan helicoidalmente alrededor del espacio central. Estas subunidades son cordones más pequeños, de 10-20 nm de diámetro y una subestructura espiralada.



Esquema 3. Subestructura de un cordón de la capa P1e del perisporio.

La capa externa del perisporio (P2) es muy delgada, con elevada electrodensidad y se encuentra tapizando la superficie de cada cordón de la capa externa P1e (Lám. 16, Fig. F; Lám 18, Figs. A-B).

El exosporio tiene un grosor de 1,5-3,2  $\mu\text{m}$ . En *C. delgadii* el grosor es variable debido a la ornamentación verrucosa, midiendo en las zonas entre procesos 1,6-2,4  $\mu\text{m}$  y en las verrugas 2,9-3,7  $\mu\text{m}$ . Con MET se observan dos capas (Esquema 2, Lám. 16, Figs. A-B; Lám. 17, Fig. D-E): la interna (Ei) es delgada y se distingue claramente en la base de la lesura. La capa externa (Ee) es menos densa a los electrones y tiene mayor grosor, siendo la relación Ee/Ei de 4:1. En general, la superficie del exosporio presenta perforaciones (Lám. 17, Figs. A-C), que en sección al MET se visualizan como foveas (círculos en Lám. 17, Figs. D-E), en tanto que en *C. atrovirens* y *C. delgadii* la

superficie es continua (Lám. 16, Figs. A-D). La ultraestructura de ambas capas del exosporio es compacta, homogénea y poco discernible. Es usual la presencia de canales radiales y cavidades con contenido contrastado a lo largo de todo el exosporio, y son más evidentes en la parte interna del exosporio externo, particularmente a los lados de la lesura (flechas en Lám. 16, Figs. A-C; Lám. 17, Fig. D). En *C. delgadii* la capa externa del exosporio presenta un estrato superficial más electrodensos (Lám. 16, Figs. C-D), que constituye las verrugas.

### **Lámina 16. Ultraestructura de la esporodermis de *Cyathea***

**A y B.** Secciones de la esporodermis de *C. atrovirens* al MET. A: Sección a través de la lesura. Se distinguen el exosporio interno (Ei), el exosporio externo (Ee) y el perisporio (P). En el estrato externo del exosporio, particularmente en la zona próxima a la lesura (L), se observan canales y cavidades (flechas); **C y D.** Sección de la pared de *C. delgadii*. Se observan el exosporio interno (Ei) y el exosporio externo (Ee). En superficie se identifican los cordones que forman el perisporio (P). En la figura C se visualiza un canal (flecha larga) en el Ee; **E.** Fractura del perisporio de *C. phalerata* al MEB, donde se observa el perisporio externo P1e desprendido y fracturado en varios planos. Se reconoce el estrato interno (P1i) con restos de cordones de P1e, que tapizan la superficie del exosporio. En la superficie interna del P1e se distinguen protuberancias (punta de flecha); **F.** Sección de la pared de *C. atrovirens* al MET. En P1 se diferencian los dos estratos P1e y P1i. Se observa una espina, formada por la unión de varios cordones del perisporio (P1e). En el límite entre el perisporio y el exosporio (E) se distingue un estrato menos electrodens, el P1i. Se observa el perisporio externo P2 (flecha) como una capa más electrodensa sobre los cordones. Barra: 1  $\mu\text{m}$

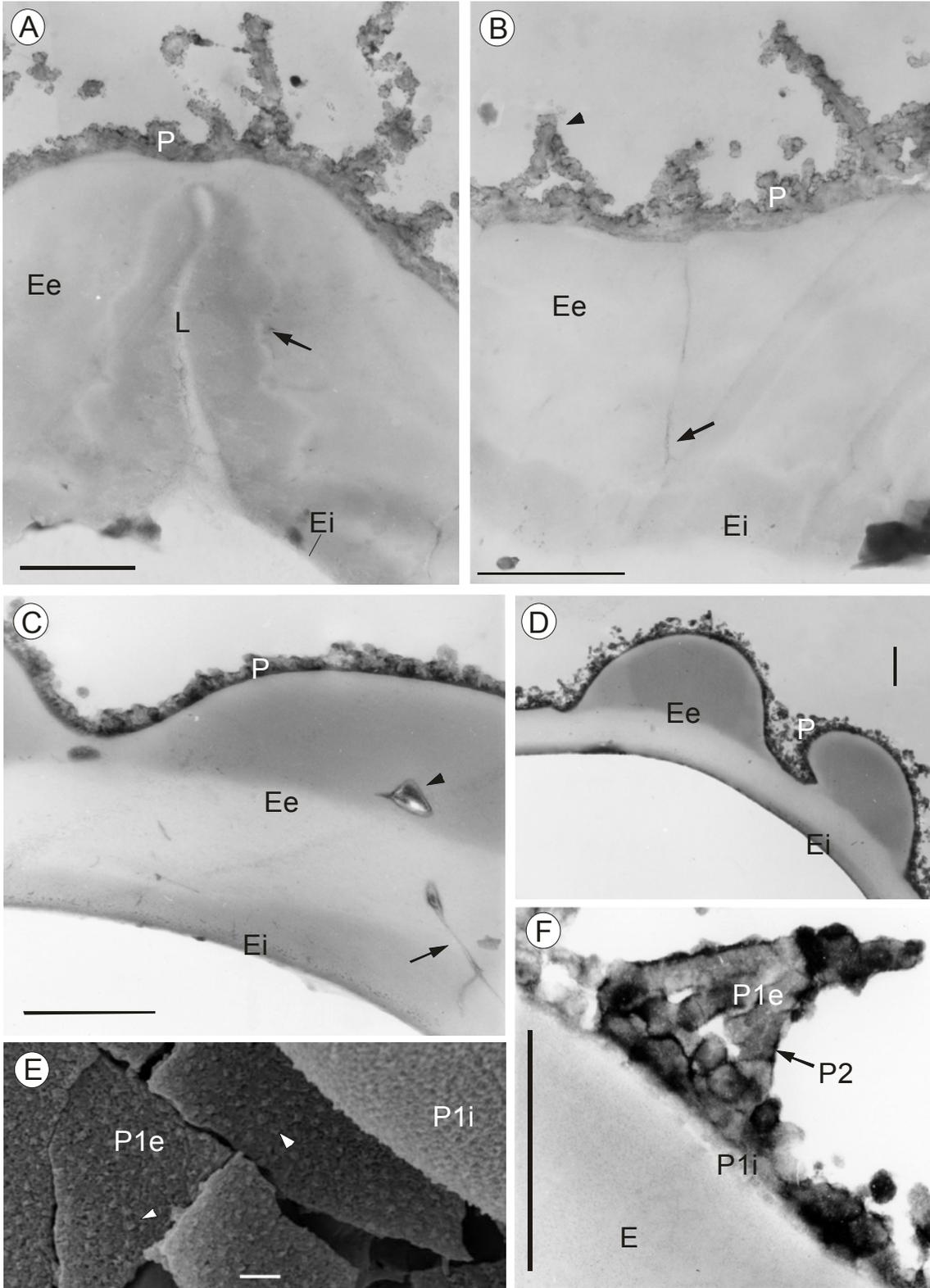
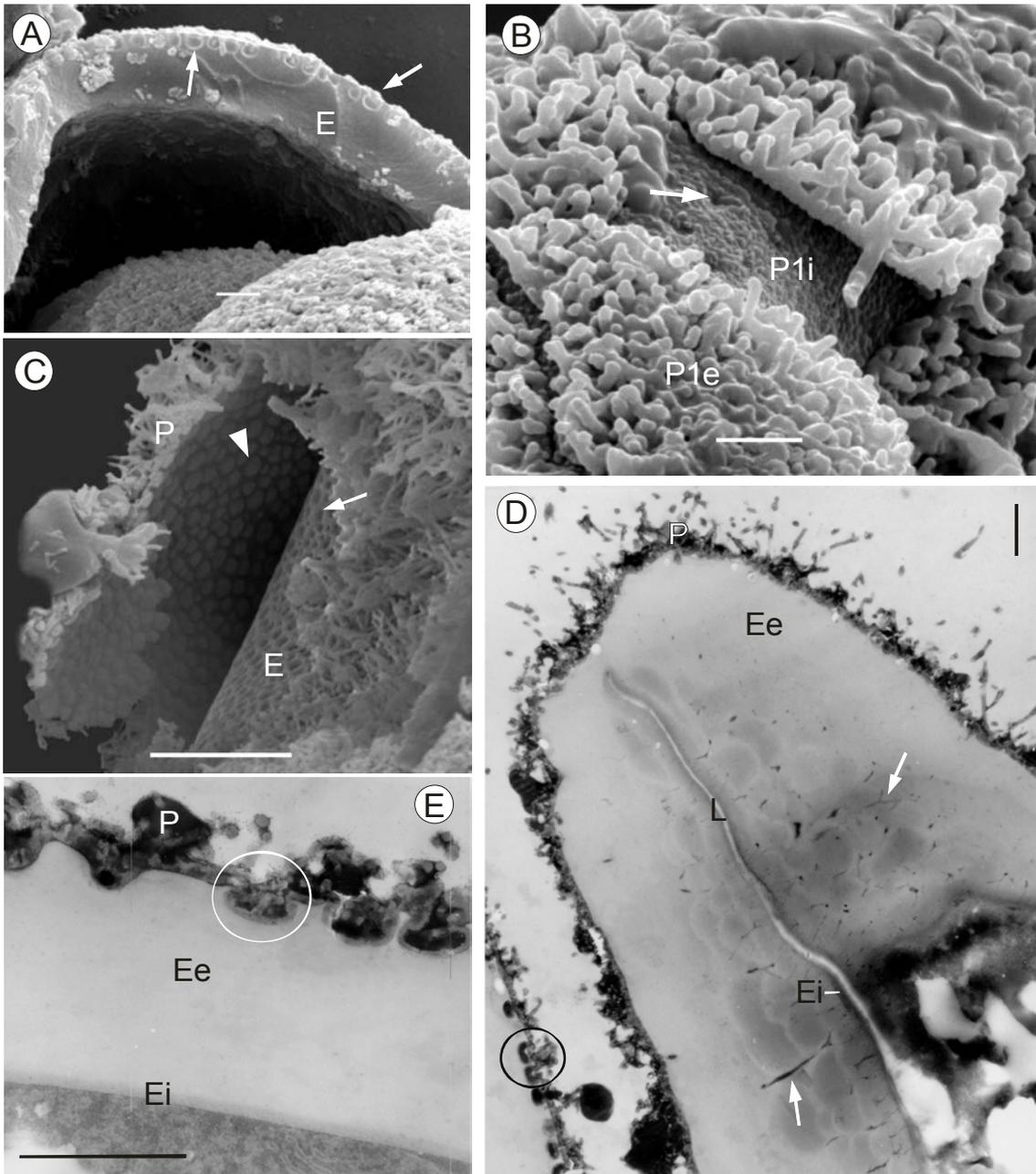


Lámina 16

### **Lámina 17. Ultraestructura de la esporodermis de *Cyathea***

**A.** Fractura de la pared de *C. villosa* al MEB. En el margen externo del exosporio (E) se señalan las foveas (flechas); **B.** Fractura de la pared de *C. corcovadensis* al MEB. Se observa el estrato interno del perisporio (P1i), perforaciones (flecha) y los cordones del estrato externo (P1e); **C.** Fractura de la pared de *C. villosa* al MEB. El perisporio (P) se ha desprendido del exosporio (E). Las protuberancias (punta de flecha) observadas en la superficie interna de (P1i) se corresponden en su base con las perforaciones (flechas) de la superficie del exosporio; **D.** Sección de la esporodermis de *C. corcovadensis* al MET a través de la lesura. Se distinguen el exosporio interno (Ei), exosporio externo (Ee) y perisporio (P). A los lados de la lesura (L) se observan gran cantidad de canales y cavidades (flechas). En otra espora, en la parte inferior izquierda de la foto, se observan las foveas del exosporio (círculo); **E.** Sección de la esporodermis de *C. corcovadensis* al MET. Se distinguen exosporio interno (Ei), exosporio externo (Ee) y perisporio (P). El círculo señala una fovea en el margen del exosporio. El perisporio se halla depositado en estas cavidades. Barras: **A, D y E:** 1  $\mu\text{m}$ ; **B:** 2  $\mu\text{m}$ ; **C:** 5  $\mu\text{m}$



Lámmina 17

**Lámina 18. Ultraestructura de la esporodermis de *Cyathea***

**A, B y C.** Secciones del perisporio de *C. atrovirens* al MET. En todos los casos se señalan, tanto en sección longitudinal como transversal, los canales internos de cada cordón (puntas de flechas) y las sub-unidades dispuestas helicoidalmente alrededor de los canales (flechas). En las figuras A y B se distingue la capa P1: estrato interno, P1i y externo, P1e; y la capa P2. E: exosporio. Barras: 100 nm

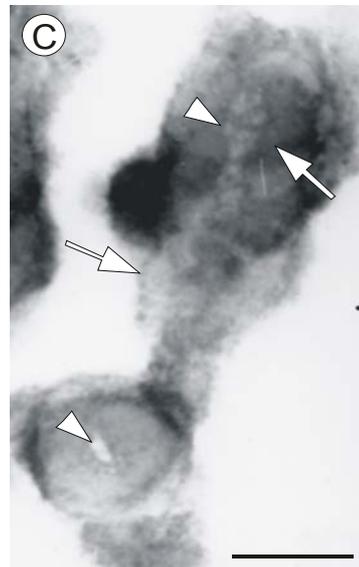
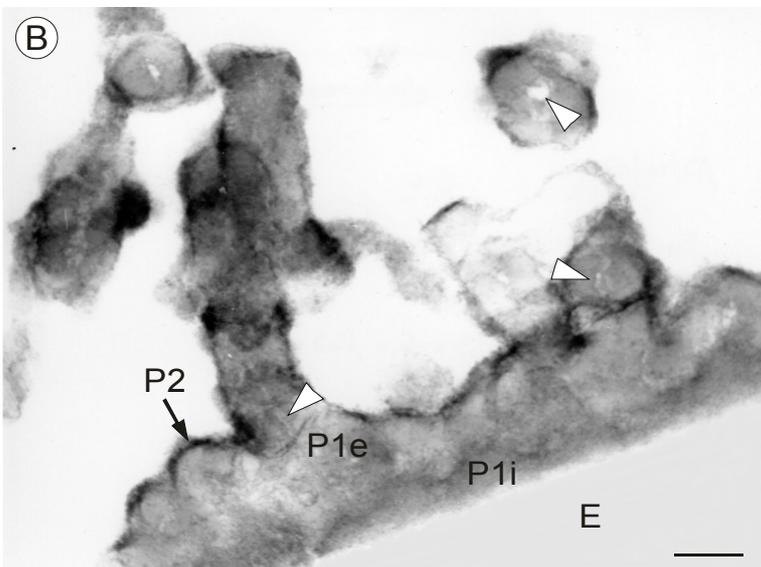
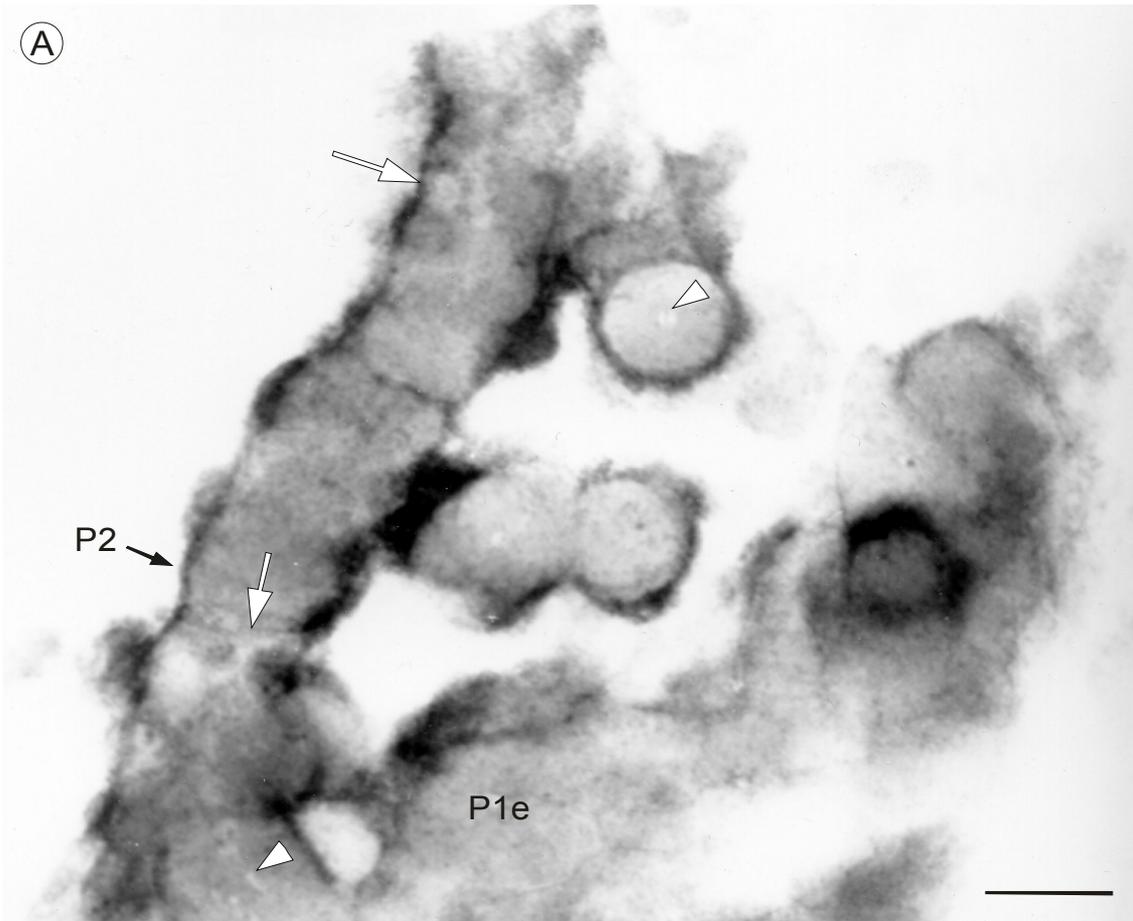


Lámina 18

### 4. 2. 3 Discusión

En base a los estudios realizados, se pudo determinar una ornamentación común para las esporas de las especies estudiadas del género *Cyathea*, que se caracteriza por presentar una red tridimensional de cordones con los extremos distales libres, que pueden fusionarse formando espinas. Estas observaciones coinciden con las de otros autores que realizaron estudios en este género, tanto palinológicos (Barth, 1975; Tryon & Lugardon, 1991; Lorscheitter *et al.*, 1999) como sistemáticos (Barrington, 1978; Gastony, 1979; Tryon & Tryon, 1982; Holtum & Edwards, 1983) y cladísticos (Conant *et al.*, 1996; Korall *et al.*, 2007).

Teniendo en cuenta la información obtenida en base a tratamientos químicos específicos (Gastony, 1974) y a observaciones realizadas con MET y MEB, los elementos de la ornamentación son parte del perisporio. Estos elementos son cordones con superficie lisa o irregular. Ambos tipos de superficie pueden encontrarse dentro de la misma especie.

En los ejemplares estudiados de *C. atrovirens* se observan esporas de diverso tamaño y forma. Estas variaciones no se han podido relacionar con la ubicación geográfica de los ejemplares, con la época del año en que fueron coleccionados o con el estado de maduración de los individuos. Fernandes (1997) pone de manifiesto la heterogeneidad morfológica de la especie, encontrando individuos adultos de distinto porte, arquitectura foliar e indumento y relaciona estas características con el hábitat. Si bien es probable que el ambiente condicione el desarrollo de las esporas, sobre todo en taxa con plasticidad fenotípica, esta especie merece un estudio particular para determinar la presencia de posibles individuos poliploides o autogámicos.

Un dato peculiar lo aportaron las esporas de *C. axilaris* y *C. hirsuta*, del sur de Brasil, ya que en las mismas el perisporio no estaba completamente depositado o carecían de

él. Gastony (1979) tampoco encuentra el perisporio totalmente desarrollado en estas dos especies. Resulta de interés el estudio de las esporas de estas especies, particularmente en lo que se refiere al desarrollo de la pared, ya que se podría interpretar, de esta manera, si existen fallas en la depositación del perisporio o si los ejemplares coleccionados hasta el momento corresponden a individuos jóvenes.

Las características de la superficie del exosporio permiten reunir a las especies estudiadas en los siguientes grupos:

- Verrucosas: *C. delgadii*
- Levigadas y/o perforadas;
  - Levigadas: *C. atrovirens*
  - Perforadas, total o parcialmente;
    - Perforadas totalmente: *C. axilaris*, *C. corcovadensis*, *C. hirsuta*, *C. villosa*
    - Perforada en la cara distal: *C. phalerata*

Conant *et al.* (1996) relacionan los distintos tipos morfológicos de esporas con los grupos resultantes de las hipótesis filogenéticas realizadas hasta ese momento y mencionan tres tipos básicos de esporas dentro del clado *Cyathea*: verrucosas, lisas y triporadas. Comparando este trabajo, con los resultados obtenidos por Gastony (1979), se puede presumir que existe una tendencia evolutiva a la pérdida de las perforaciones y a la adquisición de una ornamentación verrucosa.

En este sentido, en los datos obtenidos en el presente estudio se observa la variabilidad documentada en los trabajos previos. Si bien la mayoría de las especies tratadas aquí no han sido incluidas en análisis filogenéticos previos, se puede inferir que, *C. corcovadensis*, *C. hirsuta*, *C. leucolepis* y *C. villosa* pertenecerían al clado basal *C. armata* por poseer esporas lisas y perforadas; *C. atrovirens* y *C. phalerata* con esporas

lisas podrían pertenecer al clado *C. gibosa* y *C. delgadii*, con esporas verrucosas, pertenecería al clado más derivado *C. divergens*.

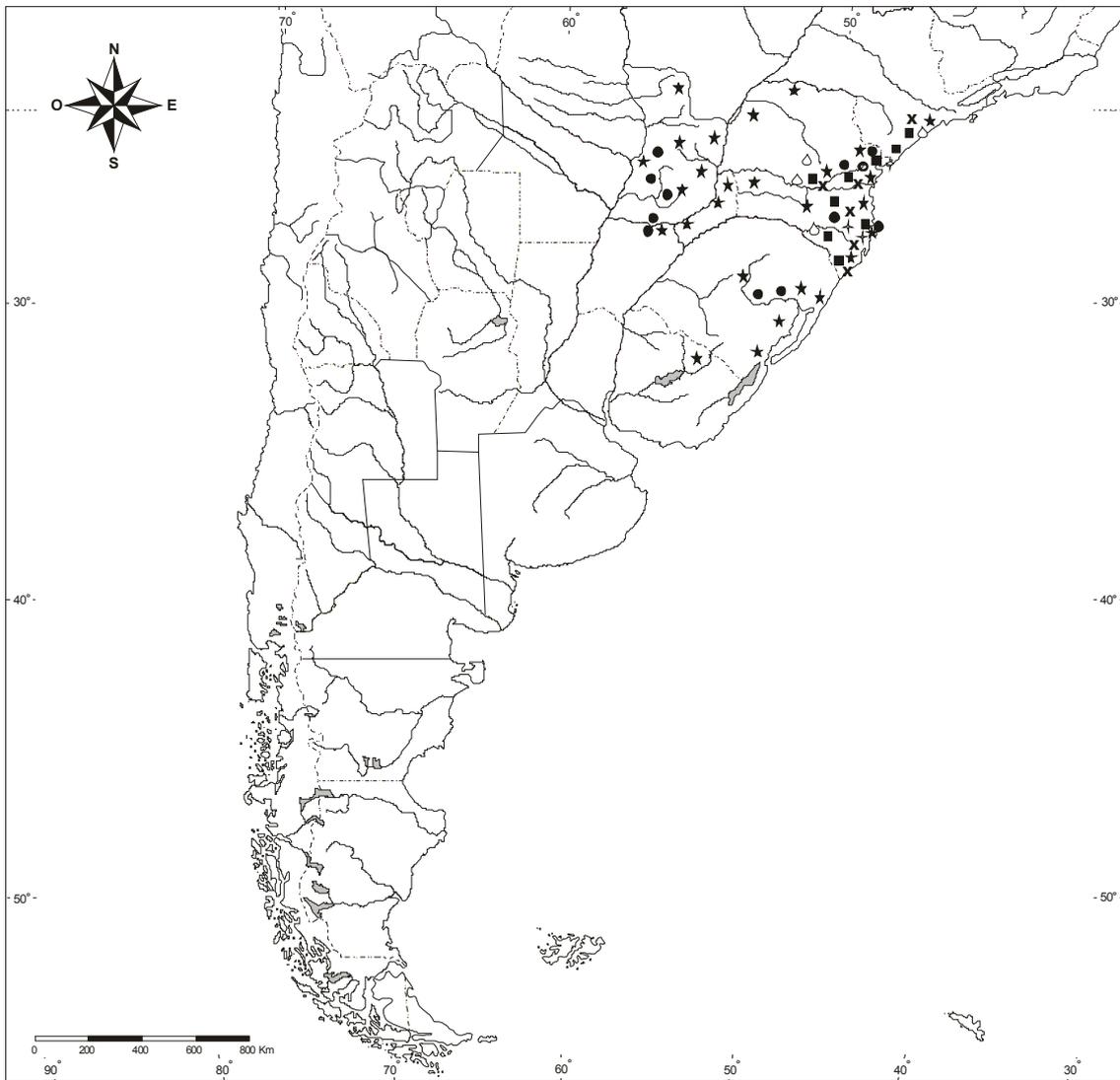
El exosporio de las especies estudiadas observado con MET presenta dos capas bien discernibles. La interna (Ei) es delgada y puede visualizarse mejor a la altura de la lesura. La capa externa (Ee) es homogénea y está atravesada por canales y cavidades rellenos con una sustancia oscura, más numerosos a la altura de la lesura. Hacia el interior de Ee encontramos una zona donde los canales se ramifican y disminuyen de diámetro, pudiéndose identificar varios estratos, como se observa en la Lám. 2, Fig. D. Esta zona fue nombrada por Lugardon (1974) como “estrato fisurado” y es característico de los exosporios “blechnoides”.

En todos los casos el perisporio esta formado por dos capas que son discernibles al MET por la cantidad de estratos, la ultraestructura y el grado de densidad. La capa externa es continua formada por una sustancia oscura por alta electrodensidad, que se deposita sobre los cordones de la capa subyacente.

La capa interna tiene dos estratos que pueden diferenciarse por la disposición de las subunidades estructurales, que son pequeños cordones de 10-20 nm de diámetro. En el estrato interno P1i estos cordones están desorganizados, dispuestos en forma compacta y entremezclados con material amorfo. En cambio, en el estrato externo P1e las subunidades se enrollan en forma helicoidal sobre un eje y constituyen cordones de mayor diámetro (100 nm) con un canal interno de posición media. Este tipo de estructura es muy similar las unidades cilíndricas descritas por Wittborn *et al.* (1998) para *Fagus sylvatica* y *Lycopodium clavatum*, que estarían formadas por subunidades con una disposición helicoidal.

Los resultados que se desprenden del análisis de la ultraestructura del perisporio durante el desarrollo de esta tesis, apoyan los modelos propuestos por Rowley *et al.* (1981;

1982; 1988; 1990; 1995) que sostienen que la subestructura de las paredes de las esporas y los granos de polen están formados por unidades subestructurales helicoidales. En cambio difieren de las interpretaciones realizadas por Southworth (1986) y Tryon & Lugardon (1991), quienes consideraron que las unidades subestructurales fundamentales que conforman el perisporio serían gránulos.



- |                                |                             |
|--------------------------------|-----------------------------|
| ★ <i>Cyathea atrovirens</i>    | ● <i>Cyathea leucofolis</i> |
| ■ <i>Cyahtea corcovadensis</i> | ✕ <i>Cyathea phalerata</i>  |
| ● <i>Cyathea delgadii</i>      | ♾ <i>Cyathea villosa</i>    |
| ✧ <i>Cyathea hirsuta</i>       |                             |

**Mapa 2.** Distribución de las especies de *Cyathea* en el Cono Sur.

Género  
*Sphaeropteris*



### 4. 3. Género *Sphaeropteris*

#### 4. 3. 1. Morfología general de las esporas del género

Las esporas de este género son triletes, triangulares en vista polar, con lados rectos y ángulos redondeados. En vista ecuatorial son convexo-hemisféricas. Las lesuras son rectas y llegan hasta el ecuador. El exosporio es castaño claro al MO y el perisporio es más delgado y castaño oscuro al MO. La ornamentación se caracteriza por la presencia de lomos con espinas en el margen.

*Sphaeropteris gardneri* (Hook.) Tryon, Contr. Gray. Herb. 200: 20. 1970.

*Cyathea gardneri* Hook., Sp. Fil. 1: 21, t. 10A. 1846. Lectotipo: Brasil, Arraial das Mercedes, Gardner 5328 (K, fragmento NY; Isotipos: fragmento ex P, F; P; US). Paratipo: Brasil, Morro Velho, Gardner 5333 (K, fragmento NY).

Descripción del esporofito:

Rizoma simple, de hasta 8 m de altura y 10-20 cm de diámetro, con raíces adventicias y bases foliares persistentes. Las frondes entre 1-3 m de largo. Pecíolos en relación 1:4 con respecto a la lámina, castaño-oscuros en la base, inermes o con tubérculos; escamas de la base de los pecíolos conformes, lanceoladas, base truncada, de 2-6 cm long, margen entero, con setas laterales pequeñas y seta apical larga. Láminas 2-pinnado-pinnatífidas, cartaceas a coriáceas; raquis lisos o con tubérculos. Costa, cóstulas y venas con tricomas y con escamulas tricomoides. Pinnas de 35-60 cm long, corta a largamente pecioluladas. Pínnulas sésiles a cortamente pecioluladas, base cordada. Venas generalmente bifurcadas. Soros de posición media en la bifurcación de las nervaduras, indusio globoso, parafisos más cortos o iguales que los esporangios.

Distribución:

BRASIL: Estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Santa Catarina y São Paulo.

Morfología de las esporas:

Diámetro Ecuatorial A: 42.3-(45.6)-49.0  $\mu\text{m}$

Diámetro Ecuatorial B: 44.0-(49.0)-52.3  $\mu\text{m}$

Diámetro Polar: 34.0-(36.5)-39.8  $\mu\text{m}$

Espesor del exosporio: 2.1-3.2  $\mu\text{m}$

Espesor del perisporio: 0.7-2.1  $\mu\text{m}$

La ornamentación está integrada por lomos bajos y cortos, paralelos a los lados de la espora (Lam 19; Figs. A-C). El margen de los lomos presenta espinas cónicas y aguzadas que miden de 1.2-1.9  $\mu\text{m}$ , más abundantes en la cara distal y escasas o ausentes en las lesuras. Estas espinas pueden estar fusionadas en las bases (Lam 19; Fig. D). Sobre toda la superficie se pueden observar esferoides de diferente tamaño (Lam 19; Figs. E-G).

**Lámina 19. Esporas de *Sphaeropteris gardneri*:**

**A.** Vista proximal donde se observan lomos con espinas en el margen; **B.** Vista distal; **C.** Vista ecuatorial con el eje desplazado; **D.** Detalle de la superficie distal con lomos bajos y espinas en los márgenes. Se observan espinas fusionadas en la base (círculo); **E.** Detalle de la superficie proximal, donde se advierten esferoides; **F** y **G.** Detalle de la superficie. Se observan esferoides en toda la superficie, incluso sobre las espinas.

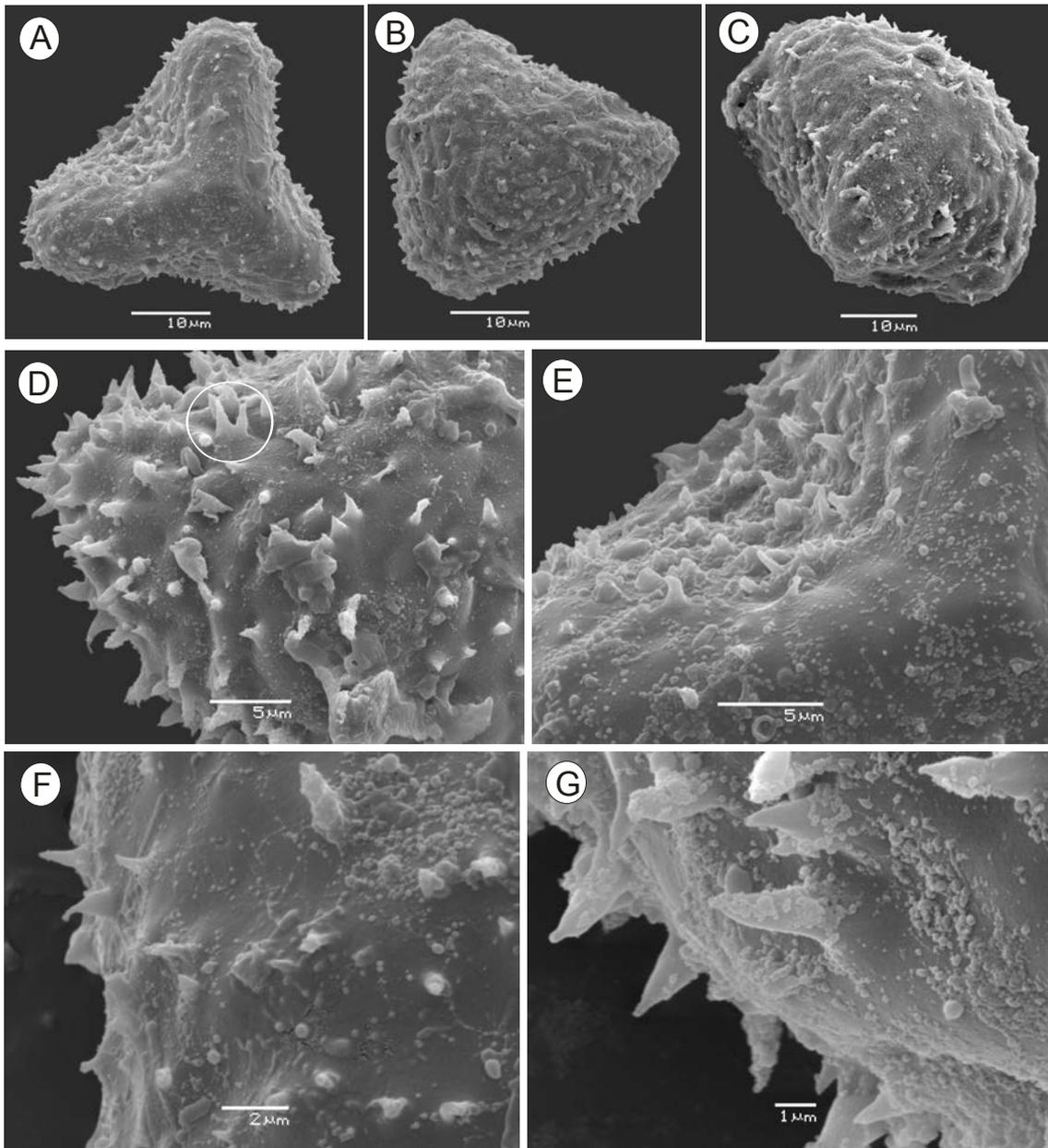
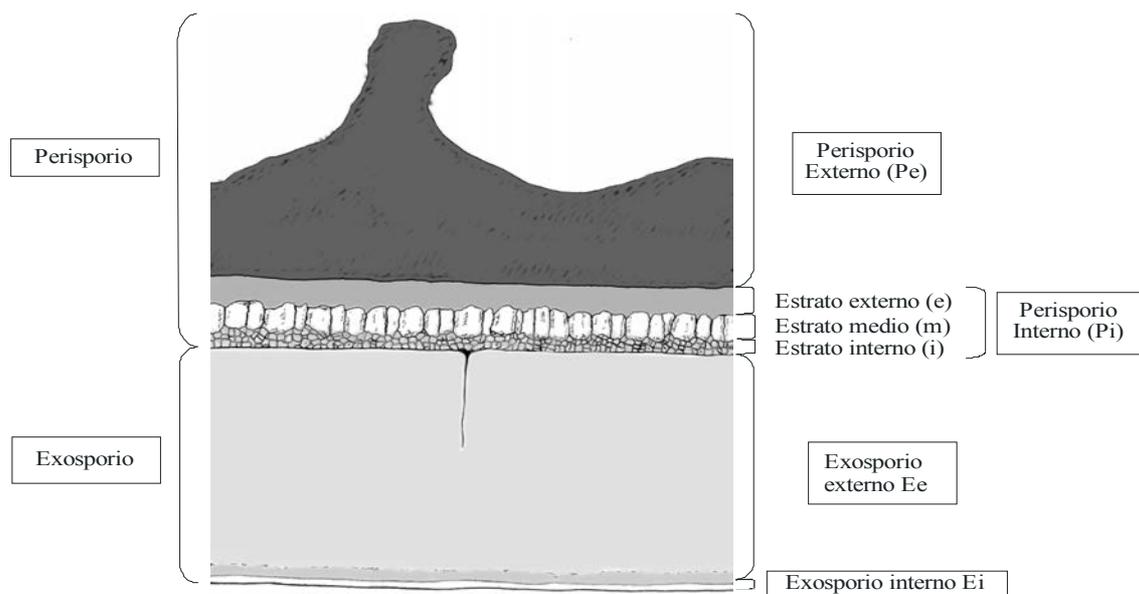


Lámina 19

### 4. 3. 2. Ultraestructura

En el perisporio se pueden diferenciar dos capas al MET (Lam 20; Figs. A-C). La capa interna (Pi) presenta tres estratos (Esquema 4, Lam 21; Fig. A): el estrato interno (**i**), de 90-150 nm de espesor, está formado por una red tridimensional de cordones de 50-100 nm de diámetro y canales ramificados, anastomosados y dispuestos en diferentes direcciones. Los canales internos y los espacios entre cordones, están rellenos de material electrodensito. En el estrato medio (**m**), de 100-200 nm de espesor, se observan cordones semejantes a los del estrato interno (**i**), con orientación radial a través del estrato y con canales internos rellenos con material de elevada electrodensidad. En el estrato externo (**o**), de 150-200 nm de espesor, se distinguen delgadas fibras oscuras embebidas en una matriz menos contrastada.

La capa más externa del perisporio es el perisporio externo (Pe), de 0.8-1.5  $\mu\text{m}$  de espesor, forma los lomos y las espinas y, a nivel ultraestructural, está constituida por cordones poco contrastados, entremezclados y de disposición compacta (Lam 21; Fig. A).



Esquema 4. Estructura de la esporodermis de *Sphaeropteris*

Sobre la superficie observamos al MET esferoides de diverso tamaño, con un centro menos electrodensa. En algunos casos, estas estructuras pueden estar fusionadas entre si (Lam 20; Figs. C).

En el exosporio se observan dos capas bien definidas al MET: una interna delgada (Ei), claramente visible en la base y parte media de la lesura; una externa más gruesa (Ee), menos electrodensa que la anterior. La ultraestructura del exosporio es poco discernible y se pueden observar cavidades y canales simples o ramificados, abundantes en la parte más interna del Ee (Lam 20; Figs. B, D).

**Lámina 20. Ultraestructura de la esporodermis de *Sphaeropteris gardneri*:**

**A.** Fractura de la esporodermis al MEB con un detalle de los estratos interno (i) y medio (m) del perisporio interno y el perisporio externo (Pe). **B.** Sección de la esporodermis a través de la lesura. Se distinguen: exosporio interno (Ei), exosporio externo (Ee), perisporio interno (Pi), perisporio externo (Pe) y la lesura (L). Las flechas señalan los canales a los lados de la lesura. **C.** Sección de la esporodermis. Se observa un glóbulo (G), el exosporio (E), el perisporio interno (Pi) y el perisporio externo (Pe). Se diferencian pequeños esferoides (flecha) entre el glóbulo y el margen del perisporio. **D.** Sección de la esporodermis. Se observa el exosporio interno (Ei), el exosporio externo (Ee), el perisporio interno (Pi) y el perisporio externo (Pe). Se indica la presencia de un canal, conectado con el estrato interno del perisporio (flecha). Barras: **A.** 500 nm; **B, D.** 1  $\mu$ m; **C.** 250 nm;

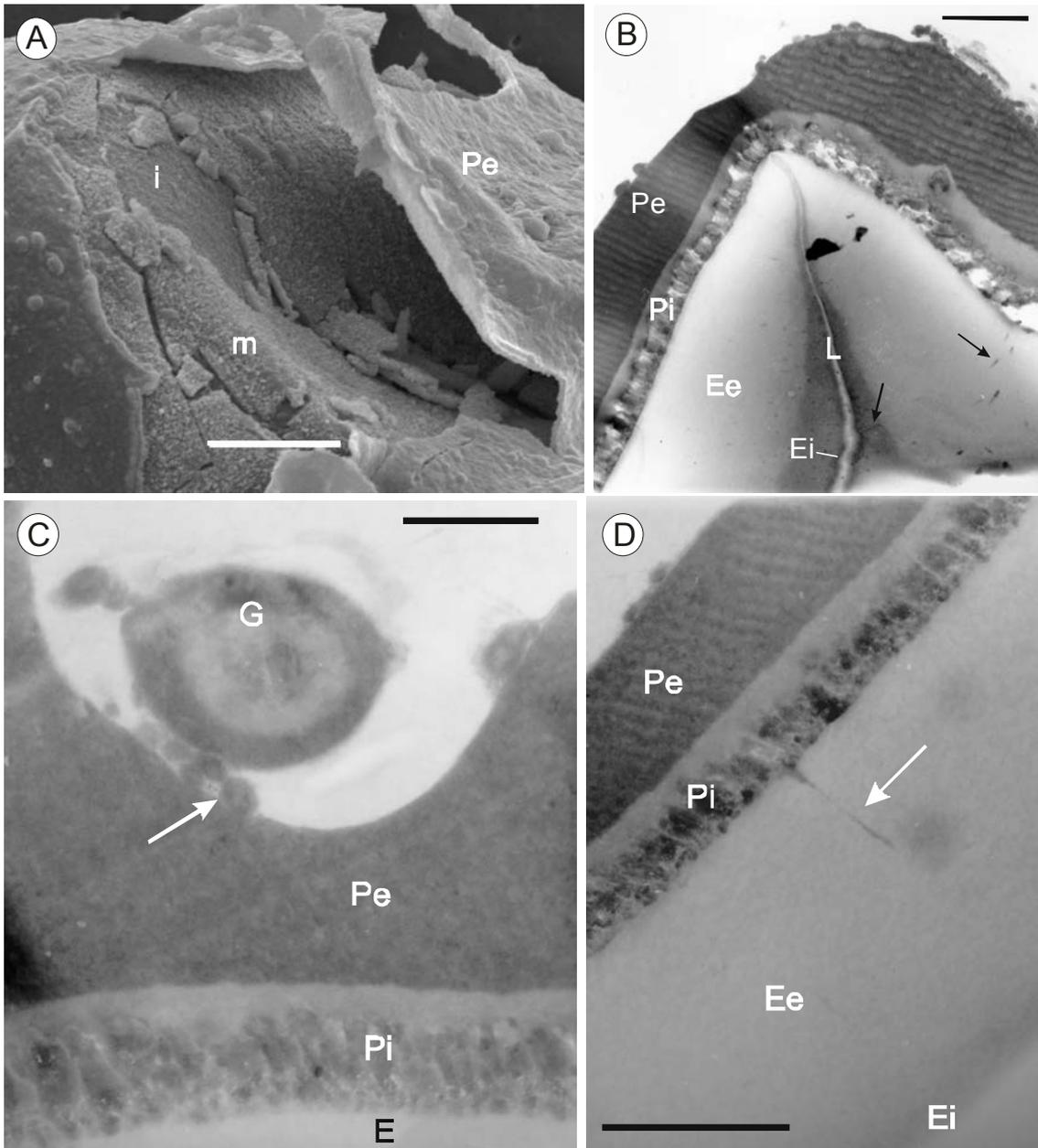


Lámina 20

**Lámina 21. Ultraestructura de la esporodermis de *Sphaeropteris gardneri*:**

A. Sección de la esporodermis. Se distinguen exosporio (E) y el perisporio externo (Pe). Se diferencian los tres estratos del perisporio interno: interno (i), medio (m) y externo (e). La flecha señala uno de los canales que se observan en el estrato medio. Barra: 250 nm.

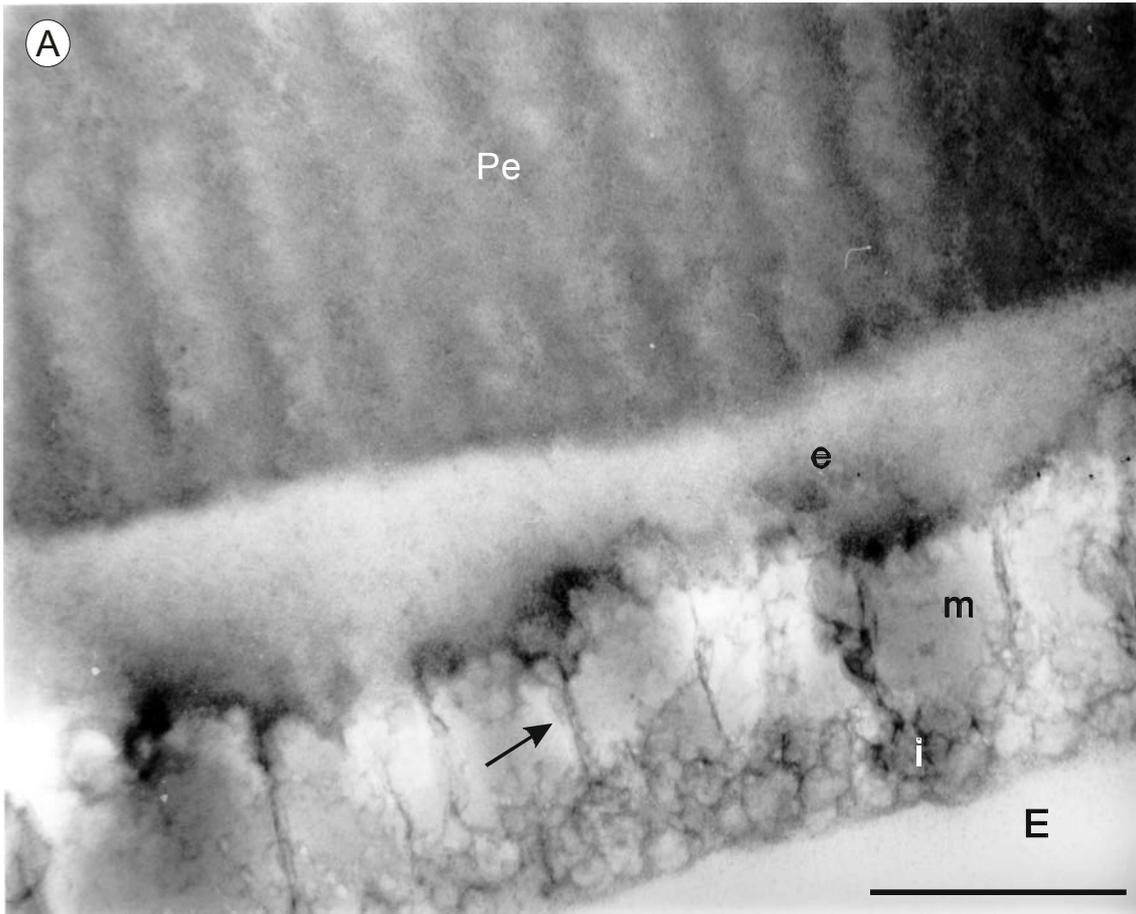


Lámina 21

### 4. 3. 3 Discusión

En base a los resultados obtenidos, podemos caracterizar a las esporas de *Sphaeropteris gardneri* por presentar una superficie formada por lomos bajos cortos, que portan largas espinas en el margen. Estos resultados se corresponden con los observados por otros autores para otros taxa del género (Tryon, 1971; Erdtman & Sorsa, 1971; Gastony & Tryon, 1976; Liew & Wuang, 1976; Braggins & Large, 1990; Tryon & Lugardon, 1991; Conant *et al.*, 1996; Korall *et al.*, 2007).

Las espinas sobre los lomos son altas y numerosas en el polo distal y escasas sobre las lesuras. Braggins & Large (1990) indicaron esta misma disposición de los elementos ornamentales para *S. medullaris*.

La superficie de las esporas es lisa y sobre ella se observan esferoides de distinto tamaño que, observados al TEM, presentan un centro menos electrodensito que la periferia, con contraste semejante al del exoporio rodeado por una capa con similar contraste y estructura que la del perisporio. En base a estos datos podemos inferir que se trata de “glóbulos”, según lo propuesto por Lugardon (1981).

A nivel ultraestructural con TEM podemos reconocer un exosporio “blechnoide”, según fue definido por Lugardon (1974), y un perisporio compuesto por dos capas, una interna formada por tres estratos y una externa de estructura masiva. La estratificación definida coincide con los resultados obtenidos por Lugardon (1971, 1974) para *Sphaeropteris cooperi* y *S. medullaris*, aunque la interpretación que se realiza de la ultraestructura difiere en algunos aspectos a la detallada por ese autor. Así, las observaciones del material aquí analizado ponen de manifiesto que la capa interna del perisporio esta formada por cordones con canales internos que se interrelacionan de distinta manera; en base a la configuración espacial cada estrato adquiere un aspecto diferente. Esta interpretación difiere de la descrita por Lugardon (*l. c.*), quien observó que los estratos

interno y medio están formados por una sustancia grumosa sobre la que se fijan o no gránulos oscuros, y el estrato externo estaría formado por finos granos poco contrastados.

En el presente trabajo se interpreta que la capa externa del perisporio esta formada por cordones de disposición compacta. Esta estructura, así como la disposición de sus elementos y la naturaleza química de los mismos, hace dificultoso su contraste con los fijadores y tinciones de rutina en microscopía electrónica.



★ *Sphaeropteris gardneri*

**Mapa 3.** Distribución de *Sphaeropteris gardneri* en el Cono Sur.

## 5. CONCLUSIONES

### GENERALES

## **Morfología de las esporas**

En relación a la morfología de las esporas de las Cyatheaceae aquí estudiadas se puede concluir que, en todos los casos las esporas son triletes, triangulares en vista polar, con los lados rectos a cóncavos. En vista ecuatorial generalmente son convexo-hemisféricas. Las lesuras son rectas en *Cyathea* y *Sphaeropteris* y sinuosas en *Alsophila*. El perisporio es el que conforma la escultura de las Cyatheaceae.

En los taxa examinados se observan tres tipos de elementos de la ornamentación, los cuales se corresponden con cada uno de los géneros estudiados. Así, *Sphaeropteris* se caracteriza por presentar lomos bajos con espinas altas en el margen, paralelos a los lados de la espora y con glóbulos de distinto tamaño sobre la superficie. La ornamentación de las esporas de *Alsophila* está constituida por lomos-crestados de distinta longitud, generalmente altos y de distribución variable. También se pueden encontrar superficies aplanadas y glóbulos superficiales. En *Cyathea* la superficie de las esporas se caracteriza por presentar una red tridimensional de cordones con los extremos distales libres o fusionados formando espinas. Estos cordones pueden presentar una superficie lisa o irregular, manifestando los distintos estadios de desarrollo en que se encuentran las esporas de cada ejemplar estudiado.

La diversidad que presenta la ornamentación, expresaría las diferentes composiciones espaciales que adquirieron los elementos constitutivos del perisporio a lo largo de la historia evolutiva del grupo. Se especula que las características externas de las esporas podrían estar relacionadas con innovaciones en la esporogénesis, estrategias de dispersión y mejor aprovechamiento de recursos.

En lo que se refiere a la superficie del exosporio, en *Alsophila* y *Sphaeropteris* es lisa; en cambio la mayoría de las especies de *Cyathea* presentan perforaciones, con

excepción de *C. atrovirens* y *C. delgadii*. Esta última especie se diferencia del resto de las Cyatheaceae del área por tener un exosporio verrucoso constituido por dos capas.

Otra característica importante de destacar en el exosporio es la presencia, en todas las especies analizadas, de una o más hileras de perforaciones a los lados de las lesuras.

De esta manera se puede observar, no solo la delimitación de géneros a través de la morfología de las esporas, sino también la conformación de grupos de especies relacionadas por este carácter. Estas características además, podrían apoyar tendencias evolutivas e hipótesis filogenéticas formuladas en estudios recientes.

Estas conclusiones están en coincidencia con lo observado por Johns (2004) en su estudio sobre los helechos arborescentes en Nueva Guinea, donde pone de manifiesto la importancia de los caracteres palinológicos en los estudios sistemáticos del grupo.

### **Ultraestructura de las paredes de las esporas**

El análisis con microscopio electrónico de transmisión arroja resultados novedosos que aportan información de relevancia sobre la esporodermis de esta familia, particularmente la relacionada con la estratificación, las unidades ultra y subestructurales que la conforman y la importancia de los protocolos utilizados en la fijación y el procesamiento. Estos datos son de importancia fundamental para inferir la posible función que cumplen los elementos que conforman la pared de las esporas y probablemente las relaciones entre los distintos grupos de helechos arborescentes.

Como primera generalización podemos advertir que el exosporio de todas las especies está constituido por dos capas bien diferenciadas. Una capa interna delgada, más evidente en la base de la lesura, y una capa externa más gruesa y menos electrodensa que la anterior, excepto en el límite con la interna, debido a la gran cantidad de canales y cavidades presentes. Esta conformación fue denominada por Lugardon (1971) como

“blechnoide” y se encuentra en las Cyatheaceae y en numerosas familias de Pteridophyta.

En el caso de *Cyathea delgadii* el exosporio externo presenta un estrato superficial que conforma las verrugas, que se caracteriza por una elevada densidad a los electrones. A pesar de esta diferencia de electrodensidad, no se observan variaciones en la ultraestructura con respecto al resto de la capa. Se infiere por tanto que esta variación al paso de los electrones podría estar relacionada con alteraciones asignables a los protocolos utilizados en el procesamiento del material.

Las diferencias encontradas entre los géneros, se observan a nivel de la escultura y estructura del perisporio. Sin embargo las unidades constitutivas de esta pared son semejantes y podrían cumplir una función similar.

Al comparar la estructura de la esporodermis de las especies presentes en el área en estudio de *Alsophila* y *Sphaeropteris*, se observa una marcada coincidencia en la estratificación del perisporio, con una capa interna con tres estratos y una externa uniestratificada, lo que coincide con los resultados obtenidos por Tryon & Lugardon (1991). De esta manera, y teniendo en cuenta la información disponible sobre la estratificación de la esporodermis en helechos se estima que, este tipo de estructuración sería exclusiva de las Cyatheaceae y en especial, de los dos géneros arriba mencionados. A pesar de estos rasgos compartidos, existen diferencias en el arreglo espacial de las unidades estructurales en cada género. La diferencia más marcada se observa en la capa externa del perisporio. En *Sphaeropteris* los cordones que la componen se encuentran muy apretados y presentan un aspecto homogéneo y ordenado. En cambio en *Alsophila* los cordones se contrastan con mayor intensidad y pueden individualizar en las secciones transversales, están entrelazados de manera laxa y en algunos casos, se unen en manojos.

El perisporio de *Cyathea* presenta características muy distintas a las encontradas en los otros dos géneros analizados. Está constituido por dos capas, que ponen de manifiesto una drástica reducción en la estratificación con respecto a los otros géneros. Se puede hacer una homología entre los cordones que constituyen la capa interna de *Cyathea* y los observados en las distintas capas y estratos de *Alsophila* y *Sphaeropteris*. Estos cordones tienen aproximadamente el mismo diámetro (100 nm) y están formados por sub-unidades enrolladas helicoidalmente sobre un eje central, formado por uno o dos canales centrales.

Se observa una marcada similitud en las dimensiones y subestructura de los cordones de las Cyatheaceae con respecto a estructuras similares encontradas en angiospermas (*e. g.*, Rowley, 1981) y Lycophyta (Morbelli, 1995). De esta manera, y en base a estudios previos realizados en angiospermas (Rowley *et al.*, 1970; 2003) y otras Pteridofitas (Pettit & Jermy, 1974; Pettit, 1976; Morbelli & Rowley, 1993), se podría inferir que los cordones y canales tendrían un rol fundamental en la translocación de sustancias en las primeras etapas del desarrollo, por lo que se estima que la eliminación de estratos podría facilitar esta tarea.

El análisis de la ultra y subestructura de estos taxa, en base a las conclusiones obtenidas de la observación de otros caracteres por otros autores, estaría señalando que los procesos evolutivos tendieron a la reducción de capas del perisporio. Sin embargo, la manera en que se organizan y relacionan los cordones tiende a ser más compleja, y por tanto más funcional, en los géneros más derivados, llegando a formar espinas en la superficie de *Cyathea*.

Gastony (1974) estudió las características de las esporas y de los esporangios de las Cyatheaceae y determinó que *Alsophila* tenía menor cantidad de esporas y esporangios más pequeños que *Sphaeropteris* y *Cyathea*. Concluyó que estas características

favorecían la dispersión de las esporas en *Alsophila* dentro de esporangios y las esporas sueltas en los otros dos géneros. De esta manera, los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que la reducción de estratos de la esporodermis y la presencia de espinas, podrían estar relacionadas con la tendencia evolutiva de alivianar y dotar de una superficie más acorde con la dispersión por el viento a las esporas de las Cyatheaceae. Así, se encuentra la máxima expresión de estas características en *Cyathea*, el género más derivado del grupo según los últimos análisis filogenéticos.

Queda por corroborar la validez de la hipótesis planteada en el párrafo anterior en futuras investigaciones basadas en estudios de desarrollo que incluyan métodos experimentales de infiltración de la pared y análisis de la dispersión de las esporas.

Un apartado especial es necesario para discutir la organización interna de los cordones, observados en el perisporio de todos los taxa estudiados y que constituirían la base subestructural del perisporio.

En *Alsophila* y *Sphaeropteris* estos cordones se pueden individualizar en el estrato medio de la capa interna del perisporio aunque, con mayor dificultad, se pueden observar en el resto de la pared. Estos cordones se encuentran enrollados rodeando uno o más canales centrales rellenos por una sustancia oscura.

En el material de *Cyathea* se visualiza más claramente la ultraestructura de los cordones. En las imágenes con mayor aumento (85.000x) se observa que estos tienen alrededor de 100 nm de diámetro y canales en su interior. Estos últimos, de aproximadamente 10 nm de diámetro, serían las subunidades básicas que forman los cordones mayores y podrían asemejarse a las estructuras descritas por Wittborn *et al.* (1998) en *Fagus* y *Lycopodium*. Apoyan esta hipótesis el tamaño de las unidades y subunidades estructurales, la disposición espacial de las mismas y un estriado característico en las subunidades básicas. La utilización de microscopios más

poderosos, como los de fuerza atómica o efecto túnel, podrían aportar información más precisa sobre la estructura fina de estos elementos y, de esta manera, poner en evidencia la presencia de estructuras similares en otros grupos alejados filogenéticamente.

Con respecto al procesamiento químico realizado en las muestras, es importante destacar los diferentes resultados obtenidos al utilizar material fresco o de herbario, o cuando se utilizan para fijar, diferentes cationes, como Alcian Blue (AB) o Rojo de Rutenio (RR). En las muestras provenientes de material fresco y fijado con Glutaraldehído (GA) + RR se pueden distinguir claramente la ultraestructura y los elementos constituyentes de la pared. Por el contrario, en las muestras de material de herbario y fijadas con GA+AB, la ultraestructura es menos discernible o está muy modificada. Estos resultados se obtienen como consecuencia de que en el material vivo existen sustancias (*e. g.* glicoproteínas) que son puestas en evidencia por fijadores especiales, como el RR, y que se degradan cuando el material es herborizado.

Los resultados que se desprenden de este estudio, plantean la necesidad de realizar futuras investigaciones sobre desarrollo de las paredes dentro de las Cyatheaceae. Estas podrían ayudar a entender mejor las distintas etapas de la formación de las paredes, así como la ultraestructura y características funcionales de las mismas. De esta manera se podrá comprender el origen, la organización e inferir la función de los canales y los cordones constitutivos del perisporio, el significado de la presencia de las superficies aplanadas en ciertos sectores en *Alsophila* y la posible participación de los glóbulos en la formación de la pared.

Para finalizar, las características de la ornamentación y la ultraestructura del perisporio apoyarían la hipótesis que la complejidad de la esporodermis estaría relacionada con las distintas estrategias seguidas por este grupo, en lo que respecta a la dispersión y éxito de supervivencia de los gametofitos. Por este motivo las características de la pared de las

esporas ponen en evidencia como los helechos arborescentes han respondido a los ambientes donde habitan.

### **Filogenia y sistemática**

Los caracteres de las esporas, por ser altamente conservativos, podrían ser considerados de gran importancia en la resolución de problemas sistemáticos y filogenéticos en las Pteridophyta. Así lo demuestran los trabajos de Korall & Taylor (2006) y Moran *et al.* (2007), donde compararon la morfología de las esporas de *Selaginella* y *Elaphoglossum* respectivamente, con las hipótesis filogenéticas más recientes para cada género.

Los caracteres palinológicos utilizados en este trabajo demostraron ser importantes en la caracterización de clados obtenidos en los estudios previos. De esta manera los datos obtenidos en el presente trabajo aportarían información de gran valor para la sistemática y la filogenia.

Si bien la morfología y la estructura de las esporas aquí estudiadas no muestran uniformidad para la familia Cyatheaceae, sí ponen en evidencia una homogeneidad particular para cada género, pudiéndose utilizar como caracteres diagnósticos a ese nivel:

- *Sphaeropteris*: lomos bajos con espinas cónicas largas en el margen. Perisporio con dos capas, la interna con tres estratos.
- *Alsophila*: lomos altos y, en muchos casos, crestados. Perisporio con dos capas, la interna con tres estratos.
- *Cyathea*: red tridimensional de cordones con los extremos libres que; en algunos casos se fusionan formando pequeñas espinas. Perisporio con dos capas, la interna con dos estratos.

Luego de décadas de largas discusiones sobre la delimitación sistemática de las Cyatheaceae, los últimos estudios filogenéticos basados en caracteres moleculares, morfológicos y/o paleontológicos (Conant *et al.*, 1994; 1995; 1996; Korall *et al.*, 2006; 2007; Schuettpelz & Pryer, 2007) identifican tres grandes clados: *Alsophila*, *Cyathea* y *Sphaeropteris*.

Existen dos hipótesis sobre la posición de estos clados en el esquema filogenético. Conant *et al.* (1994; 1995; 1996) presentaron filogenias donde *Alsophila* aparece como género basal, a partir del cual se deriva un clado superior formado por *Cyathea* y *Sphaeropteris*. En cambio, Korall *et al.* (2006; 2007) y Schuettpelz & Pryer (*l. c.*) encuentran como basal a *Sphaeropteris*, y como grupos derivados a *Cyathea* y *Alsophila*.

En base a las diferencias encontradas en la ultraestructura del perisporio, sumados a las características de la ornamentación y la información recabada de las últimas hipótesis filogenéticas, se sugiere que existiría una tendencia a la complejización del perisporio en sentido *Sphaeropteris*→*Alsophila*.

En el área de estudio, la máxima expresión de las diferencias en la ornamentación se pueden observar en *S. gardneri*, con esporas con lomos bajos y grandes espinas, y *A. odonelliana*, *A. setosa* y *A. sternbergii*, con esporas con lomos altos. Sin embargo *A. capensis*, distribuida en el sur de Brasil y oeste de África, constituye un mosaico entre las dos morfologías. Los datos del presente trabajo, muestran que *A. capensis* tiene lomos largos y altos que portan delicadas espinas en el margen. Esta especie estaría situada, según análisis filogenéticos realizados recientemente (Korall *et al.*, 2007; Schuettpelz & Pryer, *l. c.*), entre *Sphaeropteris* y un clado derivado mayor formado por *Cyathea* y *Alsophila*. Los resultados presentados aportan información para resolver la dudosa identidad de *A. capensis* y el grupo que forma con otros helechos arborescentes

que presentan aflebias y apoyan los resultados obtenidos por Korall *et al.* (2006; 2007) y Schuettpelz & Pryer (2007).

Estas observaciones se basan en las conclusiones de Liew & Wuang (1976) que, apoyándose en estudios con microscopios óptico y electrónico de barrido, sugieren que la ornamentación de las esporas dentro de las Cyatheaceae toma dos rumbos evolutivos a partir del género basal *Sphaeropteris*, con espinas. Por un lado aparecen las esporas “estriadas” (con lomos) características de *Alsophila*, aunque algunas especies presentan caracteres intermedios con las de *Sphaeropteris*. Por otro lado describen las esporas de *Cyathea*, con depresiones superficiales en el exosporio y un perisporio más delgado.

La homogeneidad encontrada en la escultura y estructura del perisporio de *Cyathea atrovirens*, *C. corcovadensis*, *C. delgadii*, *C. hirsuta*, *C. leucofolis*, *C. phalerata*, *C. villosa*, sumada a caracteres del esporofito, como la morfología de las escamas de la base del pecíolo, fortalece la teoría del género inclusivo *Cyathea sensu* Lellinger (1987). En relación a la identidad del género *Trichipteris* (Tryon, 1970; Barrington, 1978) y las especies del nuevo mundo de *Sphaeropteris* (excepto el grupo *S. horrida*), se propone que estas sean incluidas en *Cyathea*.

Del análisis de la ultraestructura del perisporio de las especies estudiadas se puede interpretar que *Sphaeropteris* presenta características simples, expresadas en la capa externa, donde es muy difícil discernir la ultraestructura. Asimismo la complejidad ultraestructural observada en *Alsophila* y la diferente configuración espacial que adquieren los cordones en *Cyathea*, que se ve directamente expresado en la morfología, demuestran el carácter derivado de estos dos últimos géneros.

Analizando en conjunto la morfología y ultraestructura de las esporas de la familia, se puede visualizar una tendencia general a la reducción del número de estratos del

perisporio, la formación de estructuras ornamentales delicadas y la complejización de la superficie externa del exosporio.

### **Novedades taxonómicas**

Como resultado del análisis de los ejemplares objeto de estudio de esta tesis, se comprobó que *Alsophila cuspidata* (Kunze) D. S. Conant no se encuentra presente en el Cono Sur, sino que se extiende desde Panamá hasta el norte de Bolivia por los Andes. Esta especie fue citada por Gastony (1973) para Paraguay en base a dos ejemplares: *Balansa 2861* (P, *pro parte*) y *Hassler 120* (presumiblemente en P; S). Este último representa los ejemplares tipo de *Cyathea hassleriana* Christ, especie incluida en la sinonimia de *A. cuspidata* por Gastony en 1973.

El análisis de estos dos ejemplares dio como resultado que pertenecen a *Alsophila sternbergii*, especie común en Paraguay y Brasil, por lo que se incluyó *Cyathea hassleriana* dentro de la sinonimia de *A. sternbergii* (Marquez *et al.*, en prep.).

### **Paleopalinología**

Si bien no se realizaron estudios paleopalinológicos, los resultados que se desprenden de esta tesis aportarían información de valor para esta disciplina. Un grave problema se suscita a la hora de realizar asignaciones botánicas al material palinológico fosilizado ya que, en la gran mayoría de los casos, el proceso de fosilización o la violencia de los métodos utilizados para la recuperación de material biológico de las rocas y sedimentos, eliminan total o parcialmente el perisporio. Si en los estudios paleontológicos, y sobre todo bioestratigráficos, la determinación de las paleoespecies se realiza en función de las esporas que no poseen todas sus paredes, se puede llegar a incurrir en graves errores a la hora de las reconstrucciones paleoambientales.

Si bien existen evidencias para incluir dentro de las Cyatheaceae a esporas triletes con ciertas particularidades (*i. e.* perforaciones superficiales en el exosporio), la ausencia del perisporio hace muy dificultosa esta tarea. Observando la gran diversidad morfológica relacionada con el perisporio de las Pteridophyta (Tryon & Lugadon, 1991), se hace muy dificultosa la tarea de identificar taxa en base solamente al exosporio, ya que existen otros grupos de helechos que comparten las características presentes en esta pared, por ejemplo Dennstaedtiaceae, Dicksoniaceae, Gleicheniaceae.

En este sentido algunos investigadores han comenzado a realizar trabajos con esporas *in situ* (Smith *et al.*, 2003; Cesari, 2006; Shuklina & Polevova, 2007), donde la presencia de perisporio optimiza las asignaciones y, de esta manera, se robustecen las reconstrucciones paleoambientales y las teorías sobre el tiempo de aparición de esta familia en el registro fósil.

De todas maneras y ante la imposibilidad de encontrar esporas con perisporio, resultan de ayuda las características del exosporio enumeradas en los párrafos anteriores. En las actuales latitudes hay géneros que comparten el área y, teniendo en cuenta esta situación, la exclusión de géneros por las características del exosporio podría ayudar a obtener una aproximación en la identificación de estas paleoespecies.

Futuros estudios de la esporodermis de las esporas fósiles, que incluyan trabajos con microscopio electrónico de transmisión, permitirán aportar mayor información para comprender la ultraestructura de las paredes de las Cyatheaceae e inferir las tendencias que prosperaron a lo largo de la historia evolutiva de la Familia.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Arens, N. C. & P. S. Baracaldo. 1998. Distribution of tree ferns (Cyatheaceae) across the successional mosaic in an Andean cloud forest, Nariño, Colombia. *Amer. Fern Jour.* 88(2): 60-71.
- Arens, N. C. & A. R. Smith. 1998. *Cyahtea planadae*, a remarkable new creeping tree fern from Colombia, South America. *Amer. Fern Jour.* 88(2): 49-59.
- Ash, J. 1987. Demography of *Cyathea hornei* (Cyatheaceae), a tropical tree-fern in Fiji. *Australian J. Bot.* 35: 331-342.
- Balme, B. E. 1995. Fossil in situ spores and pollen grains: an annotated catalogue. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 87: 81-323.
- Barth, O. M. 1975. Principais tipos de esporos de pteridofitos encontrados em sedimentos do Ar do Rio de Janeiro. *Leandra* 6: 55-64.
- Barrington, D. S. 1978. A revision of the genus *Trichipteris*. *Contr. Gray Herb.* 208: 3-93.
- Biganzoli, F. & M. E. Múlgura de Romero. 2004. Inventario florístico del Parque Provincial Teyú Cuaré y alrededores (Misiones, Argentina). *Darwiniana* 42(1-4): 1-24.
- Bower, F. O. 1923. The ferns (Filicales): Treated comparatively with a view to their natural classification. Analytical examination of the criteria of comparison. v. 1. University Press, Cambridge.
- , 1935. Primitive land plants. Macmillian Lond.
- Braggins, J. E. & M. F. Large. 1990. Spore morphology as a taxonomic data source in *Cyathea* J. E. Smith and *Asplenium* L. *Rev. of Palaeobot. Palynol.* 64: 149-158.
- Cesari, S. N. 2006. Apitan ferns with in situ spores from the South Shetland, Antarctica. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 138: 227-238.

- Christensen, C. 1905-06. *Index Filicum*. S. Ed., Hafniae.
- Christ, H. 1897. Die Farnkräuter der Erde. Verlag, Jena.
- Conant, D. S. 1975. Hybrids in American Cyatheaceae. *Rhodora*. 77: 441-455.
- , 1983. A revision of the genus *Alsophila* (Cyatheaceae) in the Americas. *J. Arnold Arbor*. 64: 333-382.
- , 1990. Observations on the reproductive biology of *Alsophila* species and hybrids (Cyatheaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 77: 290-296.
- , & G. Cooper-Driver. 1980. Autogamous allohomoploidy in *Alsophila* and *Nephelea* (Cyatheaceae): a new hypothesis for speciation in homoploid homosporous ferns. *Amer. J. Bot.* 67 (9): 1269-1288.
- , L. A. Raubeson, D. K. Attwood, S. Perera, E. A. Zimmer, J. A. Sweere & D. B. Stein. 1996. Phylogenetic and evolutionary implications of combined analysis of DNA and morphology in the Cyatheaceae. *Proceeding of the Holttum Memorial Pteridophyte Symposium*. Royal Botanic Gardens, Kew. p. 231-247.
- , L. A. Raubeson, D. K. Attwood & D. B. Stein. 1995. The relationships of Papuanian Cyatheaceae to New World Tree Ferns. *Amer. Fern Jour.* 85:328-340.
- , D. B. Stein, A. E. C. Valinski, P. Sudarsanam & M. E. Ahearn. 1994. Phylogenetic Implications of chloroplast DNA variation in the Cyatheaceae. *I. Syst. Bot.* 19 (1): 60-72.
- Copeland, E. B. 1947. Genera Filicum. *Ann. Cryptog. Phytopathol.* 5: 1-247.
- Cortez, L. 2001. Pteridophytas epifitas encontradas en Cyatheaceae y Dicksoniaceae de los bosques nublados de Venezuela. *Gayana* 58: 13-23.

- Daviña, J. R., M. E. Rodríguez, A. I. Honfi, G. Seijo, I. Insaurralde & R. Guillen, 1999. Floristic studies of the Moconá Park, Misiones, Argentina. *Candollea* 54: 231-249.
- Diels, L. 1899. Cyatheaceae. *En: Engler & Prantl (eds.). Natürl. Pflanzenfam.* 1: 113-139.
- DeWolf, G. 1953. On the sub-division of the Cyatheaceae. M. Sc. Thesis, University of Malaya.
- Erdtman, G. 1960. The acetolysis method. A revised description. *Sv. Bot. Tidskr* 54: 561 – 564.
- & P. Sorsa. 1971. Pollen and spore morphology/plant taxonomy. Pteridophyta (test and additional illustrations). Almqvist & Wiksell, Stockholm.
- Esteves, L. M. & G. M. Felipe. 1985. Germination and morphology of spores of *Trichipteris corcovadensis*. *Amer. Fern Jour.* 75:92-102.
- Fernades, I. 1997. Taxonomia e Fitogeografia de Cyatheaceae e Dicksoniaceae nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Ined.
- Fernandes, I. 2003. Taxonomia dos representantes de Cyatheaceae do nordeste oriental do Brasil. *Pesquisas Botânica* 53: 7-53.
- Gastony, G. J. 1973. A revision of the fern genus *Nephelea*. *Contr. Gray Herb.* 203: 81-148.
- 1974. Spore morphology in the Cyatheaceae, 1. The perine and the sporangial capacity: general considerations. *Amer. Jour. Bot.* 61: 672-680.
- 1979. Spore morphology in the Cyatheaceae, 3. The genus *Trichipteris*. *Amer. Jour. Bot.* 66: 1238-1260.

- & R. Tryon. 1976. Spore morphology in the Cyatheaceae, 2. The genera *Lophosoria*, *Metaxia*, *Sphaeropteris*, *Alsophila* and *Nephelea*. *Amer. Jour. Bot.* 63: 738-758.
- Goebel, K. 1915-18. *Organographie der Pflanzen*, Aufl. 2. Teil II. Jena.
- Graham, A. 1979. *Mortoniiodendron* (Tiliaceae) and *Shaeropteris/Trichipteris* (Cyatheaceae) in cenozoic deposits of the Gulf-Caribbean Region. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 66: 572-576.
- Harris, W. F. 1955. A manual of the spores of New Zealand Pteridophyta. N. Z. Dep. Sci. Ind. Res. Bull. Wellington.
- Hassler, E. 1928. Pteridophytorum Paraguariensium et Regionum Argentinarum adjacentium conspectus criticus. *Trab. Inst. Bot. Farmacol.* 45(b): 1-102.
- Holtum, R. E. 1957. The scales of Cyatheaceae (with special reference to the genus *Schizocaena* J. Sm.). *Kew Bull.* 1957: 41-45.
- 1963. Cyatheaceae. *Fl. Males. Bull. Ser. II, Pteridophyta* 1 (2): 65-176.
- 1965. Tree ferns of the genus *Cyathea* in Java. *Reinwardtia* 7 (1): 5-8.
- 1981. The tree ferns of Africa. *Kew Bull.* 36 (3) 463-482.
- & P. J. Edwards. 1983. The tree-ferns of Mount Roraima and neighbouring areas of the Guayana Highlands with comments on the family Cyatheaceae. *Kew Bull.* 38 (2): 155-188.
- & U. Sen. 1961. Morphology and classification of the tree fern. *Phytomorphology* 11: 406-420.
- Hoshizaki, B. J. & D. G. Yansura. 2005. Cooper's tree fern and the Norfolk Island tree fern (*Cyathea cooperi* (F. v. M,ell.) Domin and *Cyathea brownie* Domin). *Fiddlehead Forum* 32 (3): 17-18.

- Huang, Y. M., S. S. Ying & W. L. Chiou. 2000. Morphology of gametophytes and young sporophytes of *Sphaeropteris lepifera*. *Amer. Fern Jour.* 90(4): 127-137.
- Johns, R. J. 2004. Perispore ornamentation of *Cyathea* (Cyatheaceae) and *Dicksonia* (Dicksoniaceae) from high altitudes in New Guinea. *Polen* 14: 43. XI International Palynological Congress.
- Jones, M. M., P. P. Olivás Rojas, H. Tuomisto & D. B. Clark. 2007. Environmental and neighbourhood effects on tree fern distributions in a neotropical lowland rain forest. *J. Veg. Sci.* 18: 13-24.
- Kramer, K. U. 1990. Cyatheaceae. *En* Kubitzki K. (Ed.). The families and genera of Vascular Plants. Springer-Verlag, Berlin, Alemania.
- Kremp, G. O. W. & T. Kawasaki. 1972. The spores of the Pteridophytes. Hirokawa Publishing Company, Tokyo, Japon.
- Korall, P & W. A. Taylor. 2006. Megaspore morphology in the Selaginellaceae in a phylogenetic context: a study of the megaspore surface and wall structure using scanning electron microscopy. *Grana* 45: 22–60.
- , Conant D. S., Metzgar J. S., Schneider H. & Pryer K. M. 2007. A molecular phylogeny of scaly Tree Ferns (Cyatheaceae). *Amer. J. Bot.* 94 (5): 873-886.
- Krassilov, V. A. 1978. Mesozoic lycopods and ferns from the Bureja Basin,” *Palaeontogr. Abt. B.* 166, 16–29.
- Kurman, M. H. & T. N. Taylor. Sporoderm ultrastructure of *Lophosoria* and *Cyatheacidites* (Filicopsida): systematic and evolutionary implications. *Pl. Syst. Evol.* 157: 85-94.
- Lehnert, M. 2003. Six new species of tree ferns from the Andes. *Amer. Fern Jour.* 93 (4): 169-183.

- , 2005. Reconsideration of *Alsohila odonelliana* (Cyatheaceae), an Andean tree fern. *Brittonia* 57 (3): 118-136.
- , 2006a. Two new tree ferns (Cyatheaceae) from southern Ecuador. *Brittonia* 58 (1): 4-9.
- , 2006b. The Cyatheaceae and Dicksoniaceae (Pteridophyta) of Bolivia. *Brittonia* 58 (3): 229-244.
- Lellinger, D. B. 1987. The disposition of *Trichopteris* (Cyatheaceae). *Amer. Fern Jour.* 77 (3): 90-94.
- León, B. 2006. Cyatheaceae endémicas del Perú. *Rev. Peru. Biol.* 13 (2): 897-898.
- Liew, F. S. & S. C. Wang. 1976. Scanning electron microscopical studies on the spores of Pteridophytes. VIII. The tree fern family (Cyatheaceae) and its allied species found in Taiwan. *Taiwania* 21 (2): 251-267.
- Lorscheitter, M. L., Ashraf A. R., Windisch P. G. & Mosbrugger V. 1999. Pteridophyte spores of Rio Grande do Sul flora, Brazil. Part II. *Palaeontographica Abt. B.* 251 (4-6): 71-235.
- Lugardon, B. 1971. Contribution à la connaissance de la morphogenèse et de la structure des parois sporales chez les Filicinées isosporées. Thèse Univ. Paul Sabatier Toulouse, 257 p., 51pl. h.t.
- , 1974. La structure fine de l'exospore et de la périspore des Filicinées isosporées. *Pollen Spores* 16 (2):161-226.
- , 1981. Les globules des Filicinées homologues des corps d'Ubisch des Spermatophytes. *Pollen Spores* 23 (1): 93-124.
- Lucansky, T. W. 1974a. Comparative studies of the nodal and vascular anatomy in the Neotropical Cyatheaceae. I. Metaxya and Lophosoria. *Amer. J. Bot.* 61:464-471.

- , 1974b. Comparative studies of the nodal and vascular anatomy in the Neotropical Cyatheaceae. II. Squamate genera. *Amer. J. Bot.* 61:472-480.
- , & R. A. White. 1974. Comparative studies of the nodal and vascular anatomy in the Neotropical Cyatheaceae. III. Nodal and petioles patterns; summary and conclusions. *Amer. J. Bot.* 61:818-828.
- , 1985. Anatomical studies of *Sphaeropteris* and *Cnemidaria* (Cyatheaceae). *Amer. Fern Jour.* 75: 80-91.
- Marcondes-Ferreira, W. M. & G. M. Felipe. 1984. Effects of light and temperature on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. *Revista Brasil. Bot.* 7: 53-56.
- Mehlreter, K. & J. G. García-Franco. 2008. Leaf phenology and trunk growth of the deciduous tree fern *Alsophila firma* (Baker) D. S. Conant in a Lower Montane Mexican Forest. *Amer. Fern Jour.* 98: 1–13.
- Mettenius, G. 1856. *Filices horti botanici Lipsiensis*. Leipzig.
- Miller, J. H. 1968. Fern gametophytes as experimental material. *Bot. Rev.* 34: 361-440.
- Moran, R. C. 1991. Eight new species of tree ferns (*Cyathea*, Cyatheaceae) from the American Tropics and three new combinations. *Novon* 1: 88-104.
- , & A. R. Smith. 2001. Phylogeographic relationships between neotropical and African-Madagascan pteridophytes. *Brittonia* 53 (2): 404-351.
- , Garrison Hanks J. & G. Rouhan. 2007. Spore morphology in relation to phylogeny in the fern genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae). *Int. J. Plant Sci.* 168(6): 905–929.
- Morbelli M. A. 1980. Morfología de las esporas de Pteridophyta presentes en la región Fuego-patagónica, República Argentina. *Opera Lilloana*, v. 28: 138 pp.
- , 1995. Megaspore wall in Lycophyta-ultrastructure and function. *Rev. of Palaeobot. Palynol.* 85: 1-12.

- , & Rowley J. R. 1993. Megaspore development in *Selaginella*. I. Wicks, their presence, ultrastructure and presumed function . *Sex Plant Reprod.* 6: 98-107.
- Murillo, A. J. & M. T. Murillo. 2003. Pteridófitos de Colombia IV. Novedades en *Cyathea* (Cyatheaceae). *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 27(102): 45-51.
- Murillo, M. T. & M. J. M. Bless. 1974. Spores of recent Colombian Pteridophyta. I. Trilete spores. *Rev. of Palaeobot. Palynol.* 18: 223-269.
- Nayar, B. K., Lata P. & L. P. Tiwari. 1964. Spore morphology of the ferns of West Tropical Africa. *Pollen et Spores* 6 (2): 551.
- , & S. Devi. Spore morphology of the Pteridoid Ferns. *Grana Palynologica* 6: 476-503.
- Peña-Chocarro, M. C., B. Jiménez, G. Marín & S. Knapp. 1999. Chacklist of the pteridophytes of the Mbaracayú Forest Nature Reserve, Paraguay. *Fern Gaz.* 15 (7): 221-258.
- Pérez-García, B. & R. Riba. 1982. germinación de esporas de Cyatheaceae bajo diversas temperaturas. *Biotropica* 14 (4): 281-287.
- Pettit, J. M. 1976. A route of passage of substances though the developing pteridophyte exine. *Protoplasma* 88: 117-131.
- , & A. C. Jermy. 1974. The surface coats on spores. *Biol. J. Linn. Soc.* 6: 245-257.
- Pichi Sermolli R. E. G. 1977. Tentamen Pteridophytorum genera in taxonomicum ordinem redigendi. *Webbia* 31 (2): 313-512.
- Ponce, M., E. R. de la Sota & M. Lehnert. 2005. Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur. *Mo. Bot. Gard.* Ined.

- Raine, J. I., D. C. Mildenhall & E.M. Kennedy. 2006. New Zealand fossil spores and pollen: an illustrated catalogue. 2nd edition. GNS Science miscellaneous series no. 4. [http://www.gns.cri.nz/what/earthhist/fossils/spore\\_pollen/catalog/index.htm](http://www.gns.cri.nz/what/earthhist/fossils/spore_pollen/catalog/index.htm)
- Randi, A. M. & G. M. Felipe. Efeito do armazenamento de esporos, da aplicação de DCMU e da pré-embebição em PEG na germinação de *Cyathea delgadii*. *Ci. & Cult.* 40: 484-489.
- Rowley, J. R. 1981. Pollen wall characters with emphasis upon applicability *Nord. J. Bot.* 1: 357-380.
- , 1988. Substructure within the endexine, an interpretation. *J. Palynol.* 24: 29-42.
- , 1990. The fundamental structure of the pollen exine. *Plant Syst. Evol. Suppl.* 5: 13-29.
- , 1995. Are the endexines of pteridophytes, gymnosperms and angiosperms structurally equivalent? *Rev. of Palaebot. Palynol.* 85: 13-34.
- , & A. O. Dahl. 1982. A similar substructure for tapetal surface and exine "tuft"-units. *Pollen et Spores* 24: 5-8.
- , & A. Dunbar. 1970. Transfer of colloid iron from sporophyte to gametophyte. *Pollen Spores* 12: 305-328.
- , & S. Nilsson. 1972. Structural stabilization for electron microscopy of pollen from herbarium specimens. *Grana* 12: 23-30.
- , J. J. Skvarla & G. El-Ghazaly. 2003. Transfer of material through the microspore exine from the loculus into the cytoplasm. *Can. J. Bot.* 81: 1070-1082.

- Schmitt, J. L. & P. G. Windisch. 2003. Relação entre comprimento do estípite, produção de frondes e tamanho do cáudice, em *Alsophila setosa* Kaulf. (Pteridophyta, Cyatheaceae). *Pesquisas Botânica* 53: 55-63.
- & ----- . 2005. Aspectos ecológicos de *Alsophila setosa* Kaulf. (Cyatheaceae, Pteridophyta) no sul do Brasil. *Acta Bot. Bras.* 19: 861-867.
- & ----- . 2006. Phenological aspects of frond production in *Alsophila setosa* Kaulf. (Cyatheaceae: Pteridophyta) in southern Brazil. *Fern Gaz.* 17: 263-270.
- & ----- . 2007. Estrutura populacional e desenvolvimento da fase esporofítica de *Cyathea delgadii* Sternb. (Cyatheaceae, Monilophyta) no sul do Brasil. *Acta Bot. Bras.* 21: 731-740.
- Schuettpelz, E. & K. M. Pryer. 2007. Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes. *Taxon* 56 (4): 1037–1050
- Sehnem, A., 1978. Ciateáceas. En R. Reitz, Fl. Il. Catarinense, part I (fasc. CIAT): 1-115.
- Simabukuro, E. A., L. M. Esteves & M. Gil Felipe. 1998. Fern spore morphology and spore rain of a preserved Cerrado Region in Southeast Brazil (Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu, São Paulo). *Amer. Fern Jour.* 88 (3): 114-137.
- Smith, S. Y., G. R. Rothwell & R. A. Stockey. 2003. *Cyathea cranhami* sp. nov. (Cyatheaceae), anatomically preserved tree fern sori from the Coger Cretaceous of Vancouver Island, British Columbia. *Amer. Jour. Bot.* 90 (5): 755-760.
- Sota, E. R. de la. 1973. La distribución geográfica de las Pteridófitas en el Cono Sur de América meridional. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 15: 23-34.

- , 1977. Pteridophyta. *En* Cabrera A. L. (Ed.) Flora de la Provincia de Jujuy, República Argentina. *Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agrop.* 13 (2): i-xiv + 1-275.
- Southworth D. 1986. Substructural organization of pollen exines. *En* Blackmore S., Ferguson I. K., (Eds.) Pollen and spores. Form and function. London: Academic Press.
- Stokey, A. G. 1930. Prothallia of the Cyatheaceae. *Bot. Gaz.* 90:1-45.
- Stolze, R. G. 1974. A taxonomic revision of the genus *Cnemidaria* (Cyatheaceae). *Fieldiana Bot.* 37: 1-98.
- Shuklina, A. S. & V. Polevova. 2007. Spores in situ and problems of the classification of Mesozoic Tree Ferns. *Palontological Journal* 41 (3): 312-318.
- Tanner, E. V. J. 1983. Leaf demography and growth of treefern *Cyathea pubescens* Mett. Ex Kuhn in Jamaica. *Botanical Journal of the Linnean Society* 87: 213-227.
- Tardieu-Blot, M. L. 1966. Sur les spores de fougères malgaches: Filicales (fin), Marattiales, Ophioglossales *Pollen et Spores* 8 (1): 75-122
- , 1941. Sur les aphyllées de Cyathéacées malgaches. *Bull. Soc. Bot. France* 88: 522-531.
- Tryon, A. F. 1990. Ferns spores: evolutionary levels and ecological differentiation. *Pl. Syst. Evol. Suppl.* 5: 71-79.
- , 1985. Stasis, diversity and function in spores based on an electron microscope survey of the Pteridophyta. *En* Blackmore S. & I. K. Ferguson (Eds.): Pollen and spores: form and function. *Linn. Soc. Symp. Ser.* 12: 233-249.
- , & B. Lugardon. 1991. Spores of the Pteridophyta. Surface, wall structure and diversity based on electron microscope studies. *Springer-Verlag*, New York.

- Tryon, R. M. 1970. The classification of the Cyatheaceae. *Contr. Gray Herb.* 200: 3-53
- , 1971. The American tree-ferns allied to *Sphaeropteris horrida*. *Rhodora* 73:1-10.
- , 1976. A revision of the genus *Cyathea*. *Contr. Gray Herb.* 206: 19-98.
- , & G. J. Gastony. 1975. The biogeography of endemism in the Cyatheaceae. *Fern Gaz.* 11 (2-3): 73-79.
- , & A. F. Tryon. 1982. Ferns and allied plants with special reference to tropical America. *Springer-Verlag*, New York.
- Windisch, P. G. 1977. Synopsis of the genus *Sphaeropteris* with a revision of the Neotropical exindusiate species. *Bot. Jahrb. Syst.* 92. 176-198.
- Wittborn J, K. V. Rao, G. El-Ghazaly & J. R. Rowley. 1998. Nanoscale Similarities in the Substructure of the Exines of *Fagus* Pollen Grains and *Lycopodium* Spores. *Ann. Bot.* 82: 141-145.

## 7. AGRADECIMIENTOS

A mi mujer, Lía, a mis hijas, Eugenia y Guadalupe, a mis padres, Carlos y Blanca, a mi hermano Emiliano, por el apoyo, la comprensión y el cariño.

A mi Directora, Marta, y a mi Codirectora, Gabriela, por la orientación, el incentivo y la confianza.

A Cecilia, Esteban, Cristian y Diego, entrañables compañeros en las salidas de colección.

A mis compañeros de trabajo de las Cátedras de Palinología y Morfología Vegetal de la FCNyM de la UNLP, por los consejos y las consultas.

A la Dra. Mónica Ponce, por sus permanentes consejos en mis estudios.

A la ANPCyT (PICT 12758) y al CONICET, por financiar mis estudios.

A las autoridades del Instituto de Botánica del Nordeste, por el indispensable apoyo brindado en la organización de los viajes de campo.

A la Lic. Rosa Degen, del herbario FCQ, por hacerme tan comfortable mi estadía en Paraguay.

A la Lic. Alejandra Ganem y a la Dra. Oglá Martínez, por la hospitalidad brindada en el viaje al noroeste del país.

A Nina Gabarayeba, David Conant, Robin Moran, Petra Korall, por los comentarios recibidos.

Al Dr. Paulo Windisch, por enviarme la tesis de la Dra. Irene Fernandes, manuscrito fundamental para el desarrollo de mis estudios.

Al Lic. Rafael Urrejola, por las cálidas conversaciones durante las observaciones en el Microscopio Electrónico de Barrido del Museo de La Plata.

A Susana, Silvio, Isabel, Luis, por el procesamiento y observación del material para microscopía electrónica de transmisión.

Al cuerpo de guardaparques de San Pedro, Misiones, particularmente al Sr. Jose Zerbino, por el apoyo brindado en los viajes de campaña realizados a esa provincia.

A las autoridades del gobierno de Misiones, particularmente al Sr. Ernesto Krauzuk, por la celeridad en la tramitación de los permisos y la buena predisposición.

A los curadores de los herbarios consultados, que enviaron el material indispensable para realizar mi tesis.