



## EL GÉNERO *HYMENASPLENIUM* (ASPLENIACEAE) EN ARGENTINA

Gabriela E. Giudice<sup>1</sup>, María L. Luna<sup>1</sup> & M. Alejandra Ganem<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Morfología Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata - CIC, provincia de Buenos Aires, Paseo del Bosque s/n°, 1900 La Plata, Argentina; [gegiudice@hotmail.com](mailto:gegiudice@hotmail.com) (autor corresponsal).

<sup>2</sup>Cátedra de Botánica General, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Alberdi 47, 4600 San Salvador de Jujuy, Argentina.

**Abstract.** Giudice, G. E.; M. L. Luna & M. A. Ganem. 2013. The genus *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) in Argentina. *Darwiniana*, nueva serie 1(1): 46-53.

A review of the *Hymenasplenium* species from Argentina is presented and their morphology and palynology are analyzed. Two species are recognized: *H. laetum* growing in Misiones, Salta and Tucumán, of terrestrial habit, and *H. triquetrum* which grows as saxicolous in Misiones. For both species, iconographies, descriptions, and distribution maps, are given. The diagnostic value of characteristics of the root inner cortex to differentiate both genera of Aspleniaceae, and the presence of two types of spores ornamentation in *Hymenasplenium*, are corroborated. Illustrations of the morphological features of the roots, petioles, and spores are presented.

**Keywords.** Argentina; Aspleniaceae; *Hymenasplenium*; morphology; spores.

**Resumen.** Giudice, G. E.; M. L. Luna & M. A. Ganem. 2013. El género *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) en Argentina. *Darwiniana*, nueva serie 1(1): 46-53.

Se presenta una revisión de las especies del género *Hymenasplenium* de Argentina y se analizan aspectos morfológicos y palinológicos. Se identificaron dos especies: *H. laetum* que crece en Misiones, Salta y Tucumán, de hábito terrestre, e *H. triquetrum* que crece como saxícola en Misiones. Para cada especie se incluye iconografía, descripciones y mapa de distribución. Se corrobora el valor diagnóstico de las características de la corteza interna de la raíz para diferenciar los dos géneros de Aspleniaceae y la presencia en el género *Hymenasplenium* de dos tipos de ornamentación de esporas. Se presentan ilustraciones de raíces y pecíolos, y de las esporas analizadas.

**Palabras clave.** Argentina; Aspleniaceae; esporas; *Hymenasplenium*; morfología.

### INTRODUCCIÓN

El género *Hymenasplenium* Hayata comprende alrededor de 20 especies neo- y paleotropicales, que se caracterizan por sus rizomas rastreros con sistema vascular dorsiventral, bases de los pecíolos ensanchadas y número cromosómico  $x = 38-39$ , a diferencia de las especies de *Asplenium* L. que típicamente poseen estelas de simetría radial,

las bases de los pecíolos no ensanchadas y número cromosómico  $x = 36$  (Murakami & Moran, 1993; Christenhusz et al., 2011).

*Hymenasplenium* se distribuye en África tropical, sudeste de Asia, Japón, Polinesia, norte de Hawaii, Antillas, América Central y del Sur, donde halla el límite austral de su distribución en la República Argentina.

Los antecedentes de filogenias moleculares

muestran que *Hymenasplenium* es un grupo monofilético distinto al resto de los *Asplenium* (Murakami & Schaal, 1994; Murakami, 1995; Murakami et al., 1999; Gastony & Johnson, 2001; Schneider et al., 2004). Esto llevó a los autores a reconocer a *Hymenasplenium* como un género, aunque no se publicaron las nuevas combinaciones de los nombres de las especies.

Schneider et al. (2004) consideraron como sinapomorfías del género *Asplenium* al número cromosómico  $x = 36$  o menor (en *Hymenasplenium*:  $x = 38$  y  $x = 39$ ) y a la presencia de esclereidas tipo "Asplenium" en la corteza interna de la raíz (ausentes en *Hymenasplenium*). Estos autores señalaron, además, que no se han encontrado híbridos entre especies de *Hymenasplenium* y de *Asplenium*, aunque los híbridos son habituales en las Aspleniaceae.

*Hymenasplenium* se reconoce como género en trabajos recientes, como por ejemplo en la clasificación de helechos y licofitas de Christenhusz et al. (2011), y en la revisión de las especies de *Hymenasplenium* de Cuba de Regalado & Prada (2011), donde además actualizaron la nomenclatura de los taxones neotropicales de este género.

El objetivo de esta contribución es revisar el género *Hymenasplenium* en la Argentina dentro del marco de la actual definición de los géneros y del estudio sistemático de los taxones de Aspleniaceae que habitan en este país, aportando información sobre su taxonomía y distribución geográfica, así como sobre los caracteres morfológicos y palinológicos que los distinguen.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó con material de herbario depositado en los siguientes herbarios CORD, JUA, LIL, LP y SI (Thiers, 2013).

Para el análisis de las raíces y los pecíolos, el material fue tratado con hidróxido de Na al 5%. Los cortes se realizaron a mano alzada y con criótomo y se colorearon con safranina al 1% en alcohol etílico 96°. Las muestras se observaron con una lupa binocular estereoscópica Nikon SMZ 1000 y con un microscopio Nikon Labophot-2.

Las esporas se analizaron con microscopios óptico y electrónico de barrido (MEB) sin tratamiento

químico previo. Para el estudio con MEB, el material fue metalizado con oro-paladio. Las observaciones se realizaron en un microscopio JEOL JSMT-100.

Se calcularon las siguientes medidas promedio de 20 esporas por ejemplar: diámetro ecuatorial y polar (incluyendo perisporio), espesor de exosporio y perisporio y dimensiones de elementos ornamentales (espinas).

Las descripciones comprenden sólo las características diagnósticas de los taxones, citándose las referencias bibliográficas para las descripciones completas.

## TRATAMIENTO TAXONÓMICO

**Hymenasplenium** Hayata, Bot. Mag. (Tokyo) 41: 712. 1927. *Asplenium* sect. *Hymenasplenium* (Hayata) K. Iwats., Acta Phytotax. Geobot. 27: 44. 1975. ESPECIE TIPO: *Hymenasplenium unilaterale* (Lam.) Hayata (= *Asplenium unilaterale* Lam.).

Plantas terrestres, epífitas o saxícolas. Rizomas rastreros con sistema vascular dorsiventral. Raíces con células parenquimáticas regularmente engrosadas. Pecíolos verdosos o castaños, con base ensanchada. Láminas generalmente 1-pinnadas, raquis redondeado o algo acanalado, con o sin alas. Venas generalmente libres. Soros dispuestos de a pares a ambos lados de la vena principal, cubiertos de indusios alargados. Esporas monoletes con perisporio plegado, espinoso o papiloso. Número cromosómico  $x = 38 - 39$ .

## Clave para la identificación de las especies que crecen en Argentina

1. Láminas con ápice pinnatífido no conforme, largamente atenuado. Pecíolos de sección circular, acanalados. Pinnas con aurícula basal acroscópica poco evidente, margen dentado o crenado-dentado y venas 1-furcadas. Esporas plegado aladas ..... *H. laetum*
1. Láminas con pinna apical subconforme. Pecíolos de sección triangular alados. Pinnas con aurícula basal acroscópica evidente, margen irregularmente crenado y venas 1-3-furcadas. Esporas espinosas ..... *H. triquetrum*

**Hymenasplenium laetum** (Sw.) L. Regalado & Prada, Amer. Fern J. 101: 278. 2011. *Asplenium laetum* Sw., Syn. Fil. 79: 271. 1806. TIPO: Schkuhr, 24 K1. Linn. Pfl.-Syst. 1: 65, t. 70. 1809 (neotipo designado por Proctor, Ferns of Jamaica 371. 1985).

**Iconografía.** Murakami & Moran, 1993: 15, Fig. 8A.

**Referencias.** Para descripción de la especie y sinónimos completos véase: Murakami & Moran, 1993: 14; Regalado & Prada, 2011: 270.

Plantas terrestres. Rizomas cortamente rastreros con escamas basifijas, 3 x 0,3 mm, lanceoladas, de margen entero y clatradas. Relación pecíolo : lámina 1 : 2. Pecíolos castaño oscuros o verdosos, acanalados. Láminas de 15-40 cm, pinnadas, herbáceas, triangular-lanceoladas, con ápice atenuado y 10-20 pares de pinnas. Raquis con alas verdosas. Pinna de 3-6 x 0,5-1,5 cm, patentes al raquis, margen dentado o crenado-dentado, ápice agudo o subobtusos, sésiles, con base cuneado-asimétrica, aurícula acroscópica poco evidente y venas 1-furcadas, con hidatodos. Soros alargados, 4-6 pares por pinna, cubiertos por indusios rectangulares, de 2-6 mm y margen entero. Esporas plegado-aladas.

**Distribución y hábitat.** México, América tropical continental, Antillas Mayores y Menores, Trinidad y Tobago, África tropical y Madagascar. En Argentina crece en las provincias de Misiones, Salta y Tucumán, habita en lugares sombríos y húmedos, bordes de arroyos y laderas de cerros, entre los 150 y 1400 m s.m. (Fig. 1).

#### Material representativo examinado

ARGENTINA. **Misiones.** Depto. Candelaria, Campo San Juan, 20-IV-1996, *Guillén 472* (LP). Depto. Guaraní, predio Guaraní, 20-IX-1995, *Tresens et al. 5418* (LP). Depto. Iguazú, PN Iguazú, Salto Arechea, 2-XII-1993, *Vanni et al. 13145* (LP). **Salta.** Depto. Orán, Río Pescado, Abra Arasayal, 26-X-1970, *Vervoorst & Cuezco 7598c* (LIL). **Tucumán.** Depto. Tafí del Valle, Yerba Buena, 700 m s.m., 02-1919, *Venturi 254* (SI); Cuesta de San Ig-

nacio, VII-1912, *Castillón 55* (SI); Cuesta de San Javier, 16-V-1917, *Osten 10481* (SI)

**Hymenasplenium triquetrum** (N. Murak. & R. C. Moran) L. Regalado & Prada, Amer. Fern J. 101: 279. 2011. *Asplenium triquetrum* N. Murak. & R. C. Moran, Ann. Missouri Bot. Gard. 80: 31, fig. 8 b, c. 1993. TIPO: Bolivia. La Paz, Prov. Nor-Yungas, "Polo-Polo bei Coroico, Im tiefen Schatten des Hochwaldes oder auf nassem Boden", 1100 m, 10-XI-1912, *O. Buchtien 625* (holotipo MO, isotipos BM 000937818!, K, NY 00149307!, US 00406302!, Z).

**Iconografía.** Murakami & Moran, 1993: 15, Figs. 8B y C.

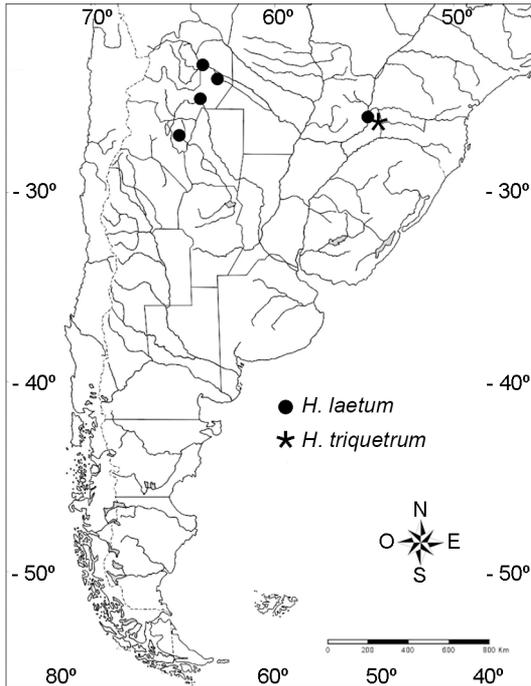
**Referencias.** Para descripción de la especie y sinónimos completos véase: Murakami & Moran, 1993: 31.

Plantas saxícolas. Rizomas cortamente rastreos con escamas basifijas, de 1 x 1,5 mm, lanceoladas, de margen entero y clatradas. Relación pecíolo : lámina 1 : 3 - 1 : 2. Pecíolos castaños o verdosos, profundamente acanalados y alados. Láminas de 20-40 cm, pinnadas, subtriangular-lanceoladas, con pinna apical subconforme y 12 a 15 pares de pinnas. Raquis con alas verdosas. Pinna distantes, patentes, de 5-9 x 1,2-1,7 cm, muchas sésiles, de ápice agudo, base cuneado-asimétrica, con aurícula basal acroscópica claramente diferenciada, margen irregularmente crenado y venas 1-3-furcadas, con hidatodos. Soros alargados, 5-8 pares por pinna, cubiertos por indusios rectangulares, de 5-9 mm y margen entero. Esporas espinosas.

**Distribución y hábitat.** Bolivia y Brasil. En Argentina crece en la provincia de Misiones, en lugares húmedos, sobre piedras, en cursos de agua y cascadas, entre los 150-800 m s.m. (Fig. 1).

#### Material representativo examinado

ARGENTINA. **Misiones.** Depto. Cainguás, Reserva Arroyo Cuña Pirú, UNLP, 13-I-2005, *Marquez & Biganzoli 65* (SI). Depto. Gral. Ma-



**Fig. 1.** Mapa de distribución de *Hymenasplenium laetum* e *H. triquetrum* en Argentina.

nuel Belgrano, Bernardo de Irigoyen, debajo de un salto muy húmedo, adherido a rocas, 800 m s.m., 29-VIII-1950, *Diem 1513* (SI).

### Análisis morfológico y palinológico

Las **raíces** presentan, en un corte transversal, una rizodermis uniestratificada, corteza parenquimática, endodermis con paredes celulares radiales y pared tangencial interna engrosadas y actinostela diarca. En general, se diferencia una corteza externa y una interna. En *H. laetum* la corteza interna está compuesta por 9-10 capas de células parenquimáticas con paredes algo engrosadas y abundantes contenidos, no identificados (Fig. 2A-B) y en *H. triquetrum* por 4-5 capas de células con paredes fuertemente engrosadas y oscuras (Fig. 2C-D).

Los **peciolos** en *H. laetum* son subcirculares en sección transversal, acanalados con breves rebordes laterales y líneas de aireación en la base de esos rebordes. En corte transversal se observan en posi-

ción subepidérmica 4-5 estratos de células parenquimáticas engrosadas y células endodérmicas con paredes radiales y tangenciales internas engrosadas (Fig. 2E-G).

En *H. triquetrum* los peciolos son triangulares en sección transversal, alados, con las líneas de aireación ubicadas en la base de las alas. Se observan 3-4 hileras de tejido subepidérmico parenquimático engrosado y células endodérmicas con paredes radiales engrosadas (Fig. 2H-I).

Las **esporas** son monoletes en ambas especies, en *H. laetum* son plegado-aladas (Fig. 3A-D) en tanto que las de *H. triquetrum* son espinosas (Fig. 3E-G).

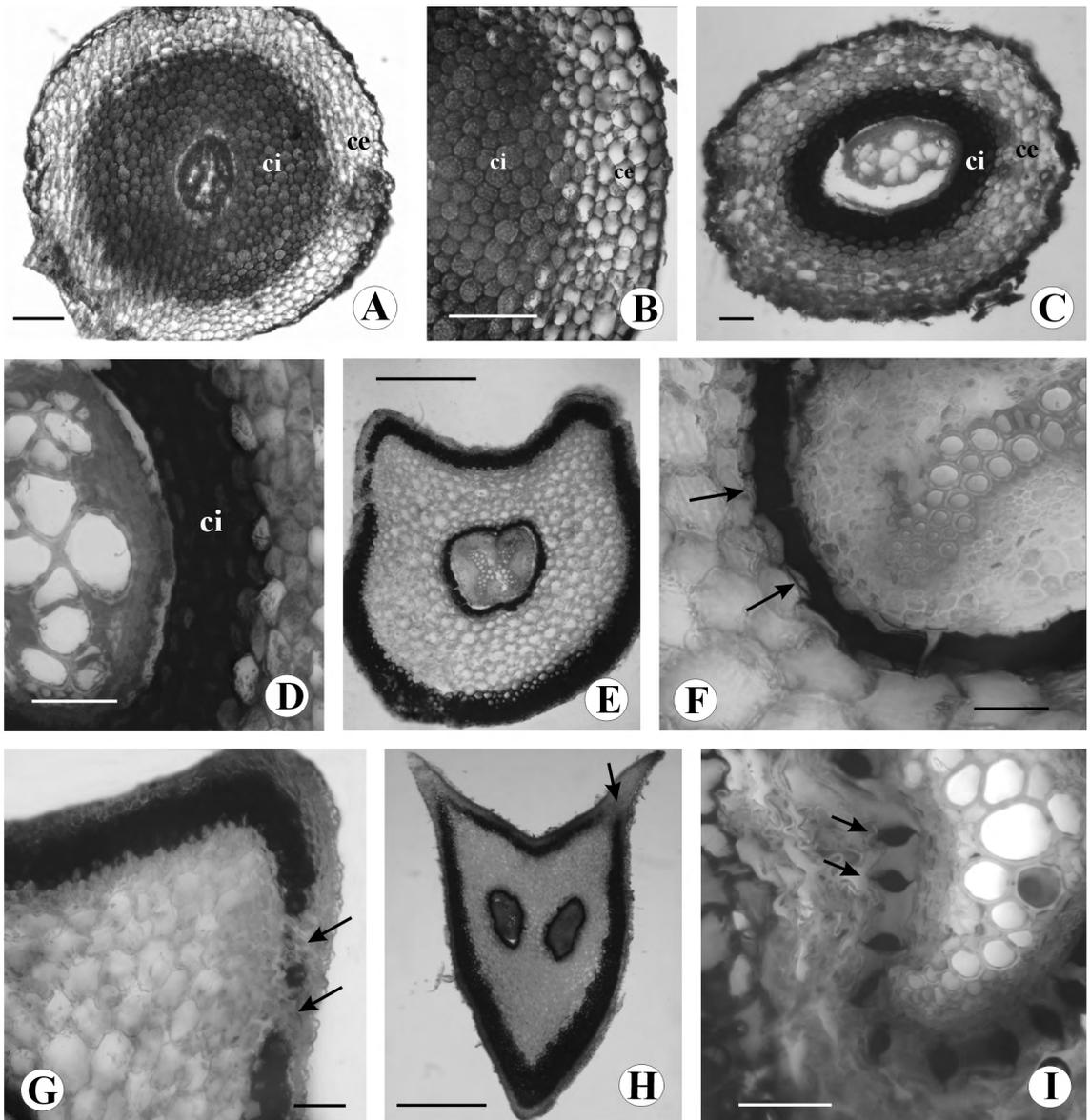
En *H. laetum* se observan en superficie numerosos pliegues alados de margen equinado, parcialmente fusionados, con abundantes perforaciones y espínulas entre pliegues. El pliegue supralesural es evidente. El diámetro ecuatorial es de 40-50  $\mu\text{m}$  y el diámetro polar de 32-38  $\mu\text{m}$ . El exosporio tiene un espesor ca. 2  $\mu\text{m}$  y el perisporio de 0,5-1  $\mu\text{m}$ .

En *H. triquetrum* la ornamentación está compuesta por espinas solitarias, distribuidas en toda la superficie de la espora, de 8-12  $\mu\text{m}$  y bases huecas. El diámetro ecuatorial es de 35-45  $\mu\text{m}$  y el diámetro polar de 20-25  $\mu\text{m}$ . El exosporio tiene un espesor ca. 2  $\mu\text{m}$  y el perisporio de 0,5-1  $\mu\text{m}$ .

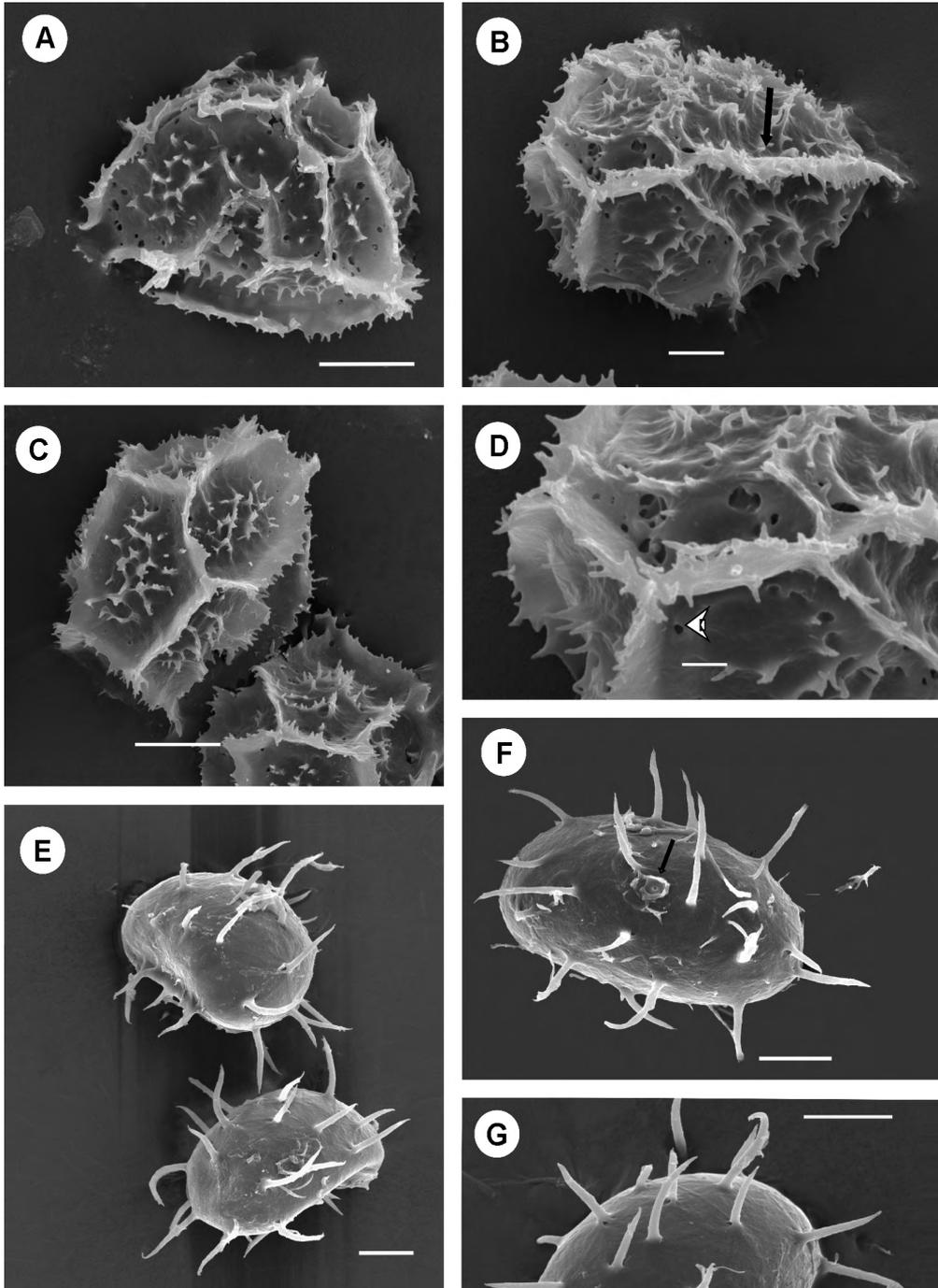
### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Para la Argentina se reconocen dos especies de *Hymenasplenium*: *H. laetum* e *H. triquetrum*. Si se tiene en cuenta la distribución general de *Hymenasplenium*, las especies aquí tratadas alcanzan la distribución más austral del género, observándose en el caso de *H. laetum* una distribución disyunta en el noroeste y noreste argentino, mientras que *H. triquetrum* habita solo en el noreste (provincia de Misiones). Si bien Regalado & Prada (2011) no mencionaron estas especies para Argentina, Murakami & Moran (1993) citaron ejemplares de referencia de *H. laetum* de la provincia de Salta y de *H. triquetrum* de la provincia de Misiones.

*Hymenasplenium triquetrum* tiene una distribución restringida a Bolivia, sur de Brasil y Argentina, a diferencia de *H. laetum* que es la especie de *Hymenasplenium* más común y más ampliamente distribuida en América.



**Fig. 2.** Cortes transversales de raíces y pecíolos de *Hymenasplenium*. **A-B**, raíz de *H. laetum*. **A**, estela diarca y zonas de la corteza parenquimática. **B**, detalle de corteza externa e interna, la última con contenidos y paredes levemente engrosadas. **C-D**, raíz de *H. triquetrum*. **C**, estela diarca y zonas de la corteza. **D**, detalle de las células parenquimáticas de la corteza interna con paredes fuertemente engrosadas. **E-G**, pecíolo de *H. laetum*. **E**, aspecto general. **F**, detalle de endodermis con engrosamientos en las paredes radiales y tangencial interna (flechas). **G**, detalle de línea de aireación (flecha). **H-I**, pecíolo de *H. triquetrum*. **H**, aspecto general. Las líneas de aireación se ubican en las zonas de las alas (flecha). **I**, detalle de endodermis con engrosamientos en las paredes radiales (flechas). Abreviaturas: ce, corteza externa; ci, corteza interna. Escalas: A-B = 200  $\mu$ m; C-D, G = 70  $\mu$ m; E = 0,5 mm; F, I = 50  $\mu$ m; H = 1 mm. A, B, E-G, de Tressens et al. 5418 (LP); C, D, H-I, de Marquez & Biganzoli 65 (SI).



**Fig. 3.** Esporas de *Hymenasplenium* (MEB). **A-D**, *H. laetum*, esporas plegado-crestadas, superficie con espinas y perforaciones. **A**, vista ecuatorial. **B**, vista proximal, pliegue supralesural evidente (flecha). **C**, vista distal, pliegues fusionados formando un retículo. **D**, detalle de la superficie con espinas y perforaciones (punta de flecha). **E-G**, *H. triquetrum*, esporas espinosas. **E**, dos esporas en vista ecuatorial. **F**, vista distal, se observa la base hueca de una espina (flecha). **G**, detalle de superficie distal con rúgulas y espinas. Escalas: A,C,E-G = 10  $\mu$ m; B = 5  $\mu$ m; D = 2  $\mu$ m. A-D, de *Tressens et al.* 5418 (LP). E-G, de *Marquez & Biganzoli* 65 (SI).

En referencia a la estructura de las raíces, se corrobora aquí el valor diagnóstico de las características de la corteza interna para diferenciar los dos géneros de Aspleniaceae. En *Hymenasplenium* se distingue un número variable de capas de células parenquimáticas con paredes regularmente engrosadas, mientras que en las raíces de *Asplenium* (Schneider, 1997) se observan de 1-3 capas de esclereidas tipo “*Asplenium*”. Leroux et al. (2011) observaron que las paredes de las células corticales de las raíces de las Aspleniaceae no están lignificadas y que la coloración oscura en algunas zonas de la corteza es producida por sustancias impregnantes aún no identificadas.

El análisis de las esporas pone de manifiesto que en el género *Hymenasplenium* se encuentran dos de los tipos de ornamentación reconocidos para las Aspleniaceae. La ornamentación espinosa es característica de un grupo de especies de *Hymenasplenium*, denominado por Murakami & Moran (1993) como “grupo repandulum” mientras que la ornamentación plegado-alada se encuentra tanto en el género *Hymenasplenium* como *Asplenium*.

En referencia a los datos aportados por Guillén & Daviña (2005) sobre el número cromosómico  $x = 36$  en especies de *Hymenasplenium*, se ha encontrado aquí un error de determinación en los ejemplares analizados por estos autores. Así, el ejemplar *Guillén 473* (SI), no corresponde a *H. triquetrum* sino a *Asplenium pulchellum* Raddi. El otro ejemplar (*Guillén 472*) citado por estos autores, no se ha podido ubicar en los herbarios consultados, pero dada la similitud de la localidad de colección, fecha y número de colección, se supone hasta tanto pueda ser corroborado, que se trataría de la misma especie que el ejemplar *Guillén 473*. Por lo expuesto se puede considerar que hasta el momento el número cromosómico básico registrado para *Hymenasplenium* es  $x = 38$  o  $x = 39$ .

Si bien el contorno de los pecíolos y el desarrollo de las alas, son características variables dentro del género *Hymenasplenium*, permiten diferenciar las especies aquí estudiadas.

Las láminas de *H. laetum* se distinguen por sus ápices extremadamente atenuados, observándose según otros autores cierta variabilidad en cuanto al tamaño de las pinnas, sus contornos y márgenes (Murakami & Moran, 1993; Regalado & Prada, 2011). Según estos autores los híbridos entre *H.*

*laetum* y *H. delitescens* (Maxon) L. D. Gómez, tienen características intermedias en las pinnas. En el material analizado en el presente estudio no se han identificado ejemplares con caracteres de posibles híbridos.

Los datos morfo-anatómicos y palinológicos aquí presentados constituyen un aporte a la sistemática de las Aspleniaceae y junto a los datos moleculares corroboran la delimitación de los dos géneros de esta familia de helechos.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco de los proyectos de ANPCyT (PICT 0661) y UNLP (N610).

## BIBLIOGRAFÍA

- Christenhusz, M. J. M.; X. Zhang & H. Schneider. 2011. A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns. *Phytotaxa* 19: 7-54.
- Gastony, G. J. & W. P. Johnson. 2001. Phylogenetic placements of *Loxoscaphe thecifera* (Aspleniaceae) and *Actinopteris radiata* (Pteridaceae) based on analysis of *rbcL* nucleotide sequences. *American Fern Journal* 91: 197-213.
- Guillén, R. H. & J. R. Daviña. 2005. Estudios cromosómicos en especies de *Asplenium* (Aspleniaceae) de la Argentina. *Darwiniana* 43: 44-51.
- Leroux, O.; A. Bagniewska-Zadworna, S. K. Rambe, J. P. Knox, S. E. Marcus, E. Bellefroid, D. Stubbe, B. Chabbert, A. Habrant, M. Claeys & R. L. L. Viane. 2011. Non-lignified helical cell wall thickenings in root cortical cells of Aspleniaceae (Polypodiales): histology and taxonomical significance. *Annals of Botany* 107: 195-207.
- Murakami, N. 1995. Systematics and evolutionary biology of the fern genus *Hymenasplenium* (Aspleniaceae). *Journal of Plant Research* 108: 257-268.
- Murakami, N. & R. C. Moran. 1993. Monograph of the Neotropical species of *Asplenium* sect. *Hymenasplenium* (Aspleniaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 80: 1-38.
- Murakami, N. & B. A. Schaal. 1994. Chloroplast DNA variation and the phylogeny of *Asplenium* sect. *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) in the New World tropics. *Journal of Plant Research* 107: 245-251.
- Murakami, N.; S. Nogami, M. Watanaba & K. Iwatsuki. 1999. Phylogeny of Aspleniaceae inferred from *rbcL* nucleotide sequences. *American Fern Journal* 89: 232-243.

- Regalado, L. R. & C. Prada. 2011. The genus *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) in Cuba, including new combinations for the neotropical species. *American Fern Journal* 101: 265-281.
- Sánchez, C. & L. Regalado. 2003. Aspleniaceae. Flora de la República de Cuba. 8(1): 1-65. Königstein: Koeltz Scientific Books.
- Schneider, H. 1997. Root anatomy of Aspleniaceae and the implications for systematics of this fern family. *Fern Gazette* 15: 160-168.
- Schneider, H.; S. J. Russell, C. J. Cox, F. Bakker, S. Henderson, F. Rumsey, J. Barrett, M. Gibby & G. C. Vogel. 2004. Chloroplast phylogeny of Asplenioid ferns based on *rbcL* and *trnL-F* spacer sequences (Polypodiidae, Aspleniaceae) and its implications for biogeography. *Systematic Botany* 29: 260-274.
- Thiers, B. M. 2013. Index Herbariorum. New York Botanical Garden, New York. (<http://sciweb.nybg.org/science2/Index-Herbariorum.asp>).