

**Estudios morfológicos y ultraestructurales de las
esporas de *Ctenitis* y *Dryopteris* (Dryopteridaceae)
del Cono Sur de América**



Tesis Doctoral

Doctorado en Ciencias Naturales

Lic. Daniel Alejandro Gorrer

Directores:

Dr. Juan Pablo Ramos Giacosa

Dra. Gabriela Elena Giudice

Facultad de Ciencias Naturales y Museo

Universidad Nacional de La Plata

2020

A mi vieja.

AGRADECIMIENTOS

A Juan por enseñarme, mostrarme, acompañarme, guiarme, corregirme, aconsejarme, por ayudarme a crecer como profesional, por las charlas amenas, por ese café previo al servicio de microscopía, por estar siempre para cualquier cosa que haya necesitado, desde mucho antes que comenzara la tesis.

A Gabi, porque siempre estuvo para guiarme en cualquier tema, por responderme todas las preguntas y sugerir las mejores opciones, por acompañarme con los mates de escritorio a escritorio tantas y tantas mañanas y por preocuparse en todo momento por nuestra salud y la de nuestros familiares.

A Lu, por los infinitos viajes a Punta Lara, por el aguante con los mosquitos, el cuidado de no rociarme con repelente y compartir esos mates con biscochos en el campo, por las charlas de fútbol y la buena predisposición para ayudar en cualquier cosa.

A Pe, infinitas gracias por acompañarme en estos años, todos los días, por compartir viajes de campo, por salir a tomar aire o fumar, por las horas y horas dentro del laboratorio a puro mate, mirando la lupa y el microscopio, por prestar un oído y dar un punto de vista distinto, por incentivarme y apoyarme en los aspectos de la vida y por las risas que compartimos juntos.

A los curadores y miembros del cuerpo de los herbarios por los préstamos del material y por su buena predisposición para ayudar con el material y su identificación: Marisa Prada y Laura Iharlegui del herbario del Museo de Ciencias Naturales y Museo de La Plata (LP); Amalia Suárez, Norma Deginani y Mónica Ponce del Instituto de Botánica Darwinion (SI); Diego Gutierrez del Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (BA); Massimiliano Dematteis del Instituto de Botánica del Nordeste (CTES); Renée Fortunato del Instituto Nacional de Tecnología Agrícola (BAB); Cecilia Ezcurra de la Universidad Nacional del Comahue (BCRU); Alexandre Salino y Raquel Stauffer Viveros de la Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB); Rafaela Forzza del Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB).

A la Prof. Patricia Sarmiento del Servicio de Microscopía electrónica de Barrido del Museo de Ciencias Naturales de La Plata.

A Isabel Farías por el procesamiento de las muestras para el estudio en microscopía electrónica de transmisión.

Al Ing. Lisandro Antón del Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio de Microscopía Electrónica (LANAIS-MIE, UBA-CONICET).

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM) por permitirme realizar el Doctorado en Ciencias Naturales de manera gratuita, a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por las oportunidades brindadas y el financiamiento de los proyectos.

A mis amigos, los de la facu, los de Rivera, los del albergue universitario, los de la vida, que me han tenido que bancar hablándoles de esporas de helechos durante varios años.

A mi familia. A mi viejo que todas las semanas me preguntaba “¿Cuánto te falta para terminar la tesis?, ¿Cómo te fue con el microscopio?, ¿Ya terminaste la materia o curso que estabas haciendo?”. A los que ya no están pero vieron todo el proceso desde el cielo: mi viejita, mi tío Ernesto y mi abuela, por sus enseñanzas de la vida, del campo y del arte de amar las cosas sencillas que hacen a la felicidad. A mis hermanos que siempre me apoyaron y me brindaron consejos, cariño, comida y unos hermosos sobrinos con los que jugar y ser feliz siempre. A mis padrinos por estar siempre presente en todo momento y a mis primos por los mates, los paseos y las charlas.

A Noe por acompañarme en la mayor parte de este camino, por adentrarse conmigo en mis locas aventuras y por apoyarme incondicionalmente, y a su familia que me abrieron las puertas de su casa y me trataron siempre como un miembro más de la familia y por brindarme tanto amor.

ÍNDICE

RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	17
1. Introducción.....	21
1.1. Presentación del tema.....	21
1.2. Antecedentes.....	23
1.2.1. La familia Dryopteridaceae.....	23
1.2.2. El género <i>Dryopteris</i>	25
1.2.3. El género <i>Ctenitis</i>	27
1.2.4. Hibridación, poliploidía y esporas.....	30
1.2.5. Referencias paleontológicas.....	33
1.2.6. Antecedentes de estudios palinológicos.....	35
1.2.7. Antecedentes palinológicos en trabajos florísticos.....	38
1.3. Objetivos.....	41
1.3.1. Objetivo general.....	41
1.3.2. Objetivos específicos.....	41
1.4. Hipótesis.....	41
2. Materiales y Métodos.....	43
2.1. Área de estudio.....	43
2.2. Obtención del material.....	45
2.3. Descripción vegetativa de las especies.....	46
2.4. Confección de los mapas de distribución.....	46
2.5. Ejemplares utilizados para el estudio palinológico.....	46
2.6. Material adicional estudiado.....	50
2.7. Material no visto.....	51
2.8. Metodologías.....	51
2.8.1. Microscopía óptica (MO).....	51
2.8.2. Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	52
2.8.3. Microscopía electrónica de transmisión (MET).....	52
2.9. Caracteres utilizados en las descripciones de las esporas.....	53
2.9.1. Caracteres cuantitativos.....	53
2.9.2. Caracteres cualitativos.....	56
2.10. Terminología empleada en las descripciones de las esporas.....	57
2.11. Análisis estadísticos.....	59

2.12. Glosario estadístico.....	60
3. Resultados.....	62
3.1. Género <i>Ctenitis</i>	62
3.1.1. <i>Ctenitis ampla</i>	62
3.1.2. <i>Ctenitis anniesii</i>	64
3.1.3. <i>Ctenitis aspidioides</i>	70
3.1.4. <i>Ctenitis bigarellae</i>	72
3.1.5. <i>Ctenitis deflexa</i>	78
3.1.6. <i>Ctenitis distans</i>	80
3.1.7. <i>Ctenitis eriocaulis</i>	86
3.1.8. <i>Ctenitis falciculata</i>	88
3.1.9. <i>Ctenitis fenestralis</i>	94
3.1.10. <i>Ctenitis glandulosa</i>	96
3.1.11. <i>Ctenitis nervata</i>	98
3.1.12. <i>Ctenitis paranaensis</i>	104
3.1.13. <i>Ctenitis submarginalis</i>	106
3.2. Género <i>Dryopteris</i>	112
3.2.1. <i>Dryopteris dilatata</i>	112
3.2.2. <i>Dryopteris filix-mas</i>	114
3.2.3. <i>Dryopteris patula</i>	120
3.2.4. <i>Dryopteris wallichiana</i>	126
3.3. Ultraestructura.....	133
3.3.1. <i>Ctenitis</i>	133
3.3.1.1. <i>Ctenitis eriocaulis</i>	133
3.3.1.2. <i>Ctenitis submarginalis</i>	136
3.3.2. <i>Dryopteris</i>	139
3.3.2.1. <i>Dryopteris patula</i>	139
3.3.2.2. <i>Dryopteris wallichiana</i>	142
3.4. Análisis estadístico.....	145
3.4.1. <i>Ctenitis</i>	145
3.4.2. <i>Dryopteris</i>	157
4. Discusión.....	164
4.1. Morfología de las esporas de <i>Ctenitis</i>	164
4.1.1. Esporas equinadas.....	166

4.1.2. Esporas rugadas.....	168
4.1.3. Superficie del perisporio.....	169
4.1.4. Color de las esporas.....	170
4.1.5. Las esporas y el grado de división de la lámina.....	170
4.2. Morfología de las esporas de <i>Dryopteris</i>	172
4.2.1. Esporas rugadas.....	173
4.2.2. Superficie del perisporio.....	177
4.2.3. Color de las esporas.....	182
4.3. Ultraestructura.....	183
4.3.1. <i>Ctenitis</i>	183
4.3.2. <i>Dryopteris</i>	184
4.4. Aborto, apogamia y poliploidía.....	186
4.4.1. <i>Ctenitis</i>	186
4.4.2. <i>Dryopteris</i>	188
4.4.3. Consideraciones finales sobre apogamia, hibridación y poliploidía.....	194
4.5. Sobre la acetólisis.....	195
4.6. Variables cuantitativas.....	196
4.6.1. Observaciones estadísticas.....	201
4.7. Consideraciones aero y paleopalinológicas.....	202
5. Conclusiones.....	205
5.1. Consideraciones morfológicas.....	205
5.2. Consideraciones estadísticas.....	209
5.3. Consideraciones finales.....	211
5.4. Proyecciones futuras.....	212
6. Bibliografía.....	213

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Provincias fitogeográficas del sur de América del Sur.....	44
Figura 2. Ejemplificaciones de las longitudes de los ejes.....	55
Figura 3. Representación de una espora en vista ecuatorial.....	57
Figura 4. Distribución de <i>C. ampla</i> en el Cono Sur de América.....	63
Figura 5. Distribución de <i>C. anniesii</i> en el Cono Sur de América.....	65
Figura 6. Esporas de <i>C. ampla</i> y <i>C. anniesii</i> del Cono Sur de América con MO.....	66
Figura 7. Esporas de <i>C. ampla</i> y <i>C. anniesii</i> del Cono Sur de América con MEB.....	68
Figura 8. Distribución de <i>C. aspidioides</i> en el Cono Sur de América.....	71
Figura 9. Distribución de <i>C. bigarellae</i> en el Cono Sur de América.....	73
Figura 10. Esporas de <i>C. aspidioides</i> y <i>C. bigarellae</i> del Cono Sur de América con MO.....	74
Figura 11. Esporas de <i>C. aspidioides</i> y <i>C. bigarellae</i> del Cono Sur de América con MEB.....	76
Figura 12. Distribución de <i>C. deflexa</i> en el Cono Sur de América.....	79
Figura 13. Distribución de <i>C. distans</i> en el Cono Sur de América.....	81
Figura 14. Esporas de <i>C. deflexa</i> y <i>C. distans</i> del Cono Sur de América con MO.....	82
Figura 15. Esporas de <i>C. deflexa</i> y <i>C. distans</i> del Cono Sur de América con MEB.....	84
Figura 16. Distribución de <i>C. eriocaulis</i> en el Cono Sur de América.....	87
Figura 17. Distribución de <i>C. falciculata</i> en el Cono Sur de América.....	89
Figura 18. Esporas de <i>C. eriocaulis</i> y <i>C. falciculata</i> del Cono Sur de América con MO.....	90
Figura 19. Esporas de <i>C. eriocaulis</i> y <i>C. falciculata</i> del Cono Sur de América con MEB.....	92
Figura 20. Distribución de <i>C. fenestralis</i> en el Cono Sur de América.....	95
Figura 21. Distribución de <i>C. glandulosa</i> en el Cono Sur de América.....	97
Figura 22. Esporas de <i>C. fenestralis</i> y <i>C. nervata</i> del Cono Sur de América con MO.....	99

Figura 23. Esporas de <i>C. nervata</i> y <i>C. paranaensis</i> del Cono Sur de América con MEB.....	100
Figura 24. Distribución de <i>C. nervata</i> en el Cono Sur de América.....	102
Figura 25. Distribución de <i>C. paranaensis</i> en el Cono Sur de América.....	105
Figura 26. Distribución de <i>C. submarginalis</i> en el Cono Sur de América.....	107
Figura 27. Esporas de <i>C. paranaensis</i> y <i>C. submarginalis</i> del Cono Sur de América con MO.....	108
Figura 28. Esporas de <i>C. paranaensis</i> y <i>C. submarginalis</i> del Cono Sur de América con MEB.....	110
Figura 29. Distribución de <i>D. dilatata</i> en el Cono Sur de América.....	113
Figura 30. Distribución de <i>D. filix-mas</i> en el Cono Sur de América.....	115
Figura 31. Esporas de <i>D. dilatata</i> y <i>D. filix-mas</i> del Cono Sur de América con MO.....	116
Figura 32. Esporas de <i>D. dilatata</i> y <i>D. filix-mas</i> del Cono Sur de América con MEB.....	118
Figura 33. Distribución de <i>D. patula</i> en el Cono Sur de América.....	121
Figura 34. Esporas de <i>D. patula</i> y <i>D. wallichiana</i> del Cono Sur de América con MO.....	122
Figura 35. Esporas de <i>D. patula</i> del Cono Sur de América con MEB.....	124
Figura 36. Distribución de <i>D. wallichiana</i> en el Cono Sur de América.....	127
Figura 37. Esporas de <i>D. wallichiana</i> del Cono Sur de América con MO.....	128
Figura 38. Esporas de <i>D. patula</i> y <i>D. wallichiana</i> del Cono Sur de América con MEB.....	130
Figura 39. Secciones con MET de la pared de las esporas de <i>C. eriocaulis</i> del Cono Sur de América.....	134
Figura 40. Secciones con MET de la pared de las esporas de <i>C. submarginalis</i> del Cono Sur de América.....	137
Figura 41. Secciones con MET de la pared de las esporas de <i>D. patula</i> del Cono Sur de América.....	140
Figura 42. Secciones con MET de la pared de las esporas de <i>D. wallichiana</i> del Cono Sur de América.....	143

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos cuantitativos de las esporas de las especies de <i>Ctenitis</i> en el Cono Sur de América.....	132
Tabla 2. Datos cuantitativos de las esporas de las especies de <i>Dryopteris</i> en el Cono Sur de América.....	132
Tabla 3. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de <i>Ctenitis</i>	145
Tabla 4. Rangos promedio del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) por especie de <i>Ctenitis</i> a partir del test de Kruskal-Wallis.....	145
Tabla 5. Comparación entre pares de rangos promedios para el diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de <i>Ctenitis</i>	146
Tabla 6. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) de <i>Ctenitis</i>	148
Tabla 7. Rangos promedio del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de <i>Ctenitis</i> a partir del test de Kruskal-Wallis.....	148
Tabla 8. Comparación entre pares de rangos promedios para el diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) de <i>Ctenitis</i>	149
Tabla 9. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro polar (DP) de <i>Ctenitis</i>	151
Tabla 10. Rangos promedio del diámetro polar (DP) por especie de <i>Ctenitis</i> a partir del test de Kruskal-Wallis.....	151
Tabla 11. Comparación entre pares de rangos promedios para el diámetro polar (DP) de <i>Ctenitis</i>	152
Tabla 12. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para la lesura (L) de <i>Ctenitis</i>	154
Tabla 13. Rangos promedio de la lesura (L) por especie de <i>Ctenitis</i> a partir del test de Kruskal-Wallis.....	154
Tabla 14. Comparación entre pares de rangos promedios para la lesura (L) de <i>Ctenitis</i>	155

Tabla 15. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de <i>Dryopteris</i>	157
Tabla 16. Rangos promedio del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) por especie de <i>Dryopteris</i> a partir del test de Kruskal-Wallis.....	157
Tabla 17. Comparación entre pares de rangos promedio para el diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de <i>Dryopteris</i>	157
Tabla 18. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) de <i>Dryopteris</i>	159
Tabla 19. Valores de las medias del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de <i>Dryopteris</i>	159
Tabla 20. Comparación entre los valores promedios del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de <i>Dryopteris</i>	159
Tabla 21. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro polar (DP) de <i>Dryopteris</i>	161
Tabla 22. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para la lesura (L) de <i>Dryopteris</i>	162
Tabla 23. Rangos promedio de la lesura (L) por especie de <i>Dryopteris</i> a partir del test de Kruskal-Wallis.....	162
Tabla 24. Comparación entre pares de rangos promedio para la lesura (L) de <i>Dryopteris</i>	162

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Valores ilustrativos del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) por especie de <i>Ctenitis</i>	147
Gráfico 2. Valores ilustrativos del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de <i>Ctenitis</i>	150
Gráfico 3. Valores ilustrativos del diámetro polar (DP) por especie de <i>Ctenitis</i>	153
Gráfico 4. Valores ilustrativos de la longitud de la lesura (L) por especie de <i>Ctenitis</i>	156
Gráfico 5. Valores ilustrativos del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) por especie de <i>Dryopteris</i>	158
Gráfico 6. Valores ilustrativos del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de <i>Dryopteris</i>	160
Gráfico 7. Valores ilustrativos del diámetro polar (DP) por especie de <i>Dryopteris</i>	161
Gráfico 8. Valores ilustrativos de la longitud de la lesura (L) por especie de <i>Dryopteris</i>	163

RESUMEN

La morfología y ultraestructura de las esporas de los géneros *Ctenitis* (C. Chr.) C. Chr. y *Dryopteris* Adans. (Dryopteridaceae) que crecen en el Cono Sur de América fueron estudiadas utilizando microscopía óptica (MO), microscopía electrónica de barrido (MEB) y de transmisión (MET). El Cono Sur de América abarca la totalidad de los territorios de Chile, Uruguay, Paraguay, Argentina (incluidas las Islas Malvinas) y los 3 estados del sur de Brasil (Paraná, Santa Catarina y Rio Grande do Sul). El estudio fue llevado a cabo con material de herbario de instituciones nacionales y extranjeras.

La familia Dryopteridaceae constituye un grupo monofilético y es una de las más grandes y diversas dentro de los helechos leptosporangiados. Contiene alrededor de 26 géneros y 2115 especies distribuidas a lo largo del mundo. La familia no posee ninguna sinapomorfia morfológica, aunque puede ser reconocida por una combinación de caracteres: el pecíolo con varios haces vasculares, venas mayoritariamente no anastomosadas y usualmente venillas no inclusas, escamas basifijas, esporas monoletes y un número cromosómico de $x=41$. Dentro de esta familia, *Ctenitis* con 125 especies y *Dryopteris* con 400 especies son dos de los géneros con mayor número de taxones.

Las especies citadas para el área de estudio son 16 para el género *Ctenitis*: *C. abyssi* (Sehnem) Salino & Morais, *C. ampla* (Humb. & Bonpl. Ex Willd.) Ching, *C. anniesii* (Rosenst.) Copel., *C. aspidiodes* (Presl.) Copel., *C. bigarellae* Schwartsb., Labiak & Salino, *C. deflexa* (Kaulf.) Copel., *C. distans* (Brack.) Ching, *C. eriocaulis* (Fée) Alston, *C. falciculata* (Raddi) Ching, *C. fenestralis* (C. Chr.) Copel., *C. flexuosa* (Fée) Copel., *C. glandulosa* R. S. Viveros & Salino, *C. laetevirens* (Rosenst.) Salino & Morais, *C. nervata* (H. Christ.) Copel. *C. paranaensis* (C. Chr.) Lellinger, y *C. submarginalis* (Langsd. & Fisch.) Ching.; y 4 especies para el género *Dryopteris*: *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *D. filix-mas* (L.) Schott, *D. patula* (Sw.) Underw. y *D. wallichiana* (Spreng.) Hyl.

El género *Ctenitis* está caracterizado por la presencia de tricomas catenados en la superficie adaxial del pecíolo, raquis y costas y por la culminación de las venas en puntas finas. *Ctenitis* es un género de distribución esencialmente pantropical, con un gran número de especies en el Neotrópico que crecen principalmente en los pisos de selvas lluviosas, en elevaciones medias y bajas.

El género *Dryopteris* está caracterizado por un pecíolo surcado en la cara adaxial decurrente con los ejes inferiores y soros redondeados con un indusio fijo por el seno. Posee una distribución prácticamente cosmopolita, puede ser encontrado en bosques o zonas alpinas o rocosas de latitudes templadas o subtempladas.

Las características cuantitativas analizadas en las esporas fueron los diámetros ecuatoriales, diámetros polares y la longitud de la lesura. Estas variables fueron analizadas estadísticamente para verificar si había diferencias interespecíficas dentro de cada género. Las características cualitativas analizadas fueron: abertura, simetría, color, forma, superficie, estructura y ultraestructura.

Las esporas del género *Ctenitis* son monoletes, de simetría bilateral (-sub-radial), de color marrón claro a marrón oscuro. El contorno es plano a convexo en vista ecuatorial y elipsoidal (-sub-circular) en vista polar. El diámetro ecuatorial mayor es de 28 (38,6) 50,4 μm , el diámetro ecuatorial menor de 14,7 (29,1) 43,1 μm , el diámetro polar 18,2 (28,8) 44,1 μm y la lesura es de 8,4 (21,5) 43,4 μm de largo.

La morfología de las esporas en las especies del género *Ctenitis* se divide en 2 grandes tipos ornamentales: el equinado y el rugado. Las especies con esporas rugadas, son aquellas que también poseen una lámina 1-pinnado-pinnatífida, mientras que *C. ampla* es la única especie dentro del género en el Cono Sur de América con esporas equinadas y lámina 2-4-pinnado-pinnatífida.

En el caso del tipo rugado, la ornamentación se compone de pliegues que presentan dimensiones variables de longitud, anchura y altura. En cuanto a su morfología pueden ser lineares, sinuosos, subglobosos, con forma de asa, que pueden estar regularmente distribuidos en toda la espora o no. Los pliegues pueden estar fusionados parcialmente y en algunos casos pueden tener ramificaciones en forma de Y. La macroornamentación es la característica con mayor variabilidad dentro del tipo rugado. La superficie del perisporio es similar en la mayoría de las especies y puede ser microverrucosa, rugulada o fina a densamente escabrada entre los pliegues y psilada a escabrada en los pliegues.

El tipo equinado fue observado únicamente en las esporas de *C. ampla*. La ornamentación está compuesta por espinas cónicas, de base ancha y ápice atenuado, huecas en su interior. La base de las espinas puede ser lisa o presentar cordones que se conectan con las bases de otras espinas.

El color de las esporas del género varía del castaño claro al castaño, con excepción de *C. bigarellae*, en cuyo caso el color de sus esporas es castaño oscuro.

La estratificación y la ultraestructura en las especies analizadas de *Ctenitis* son muy semejantes. El esporoderma está conformado por un exosporio liso y un perisporio que forma la ornamentación de las esporas mediante pliegues de dimensiones variables. Tanto el exosporio como el perisporio están constituidos por 2 capas diferenciables por grosor y contraste. En el exosporio, la capa interna es más delgada y está más contrastada que la

externa. En el perisporio, la capa interna es la más ancha y es la que forma la ornamentación mientras que la capa externa es más delgada, menos contrastada y es la que tapiza las superficies internas y externas de los pliegues.

Se hallaron esporas inmaduras, solitarias o formando agregaciones tipo tétrade en *C. fenestralis*. Por otro lado, los esporangios de *C. laetevirens* analizados se encontraron completamente abortados, negruzcos y sin esporas.

Las esporas de *Dryopteris* son monoletes, de simetría bilateral, de color marrón claro, marrón verdoso o marrón oscuro. El contorno en vista ecuatorial es plano a convexo (-ligeramente hemisférico) y elipsoidal en vista polar. El diámetro ecuatorial mayor es de 36,7 (48,9) 63 μm , el diámetro ecuatorial menor de 27,1 (33,3) 40,2 μm , el diámetro polar 28 (34) 45,5 μm y la lesura es de 17,5 (28,2) 42 μm de largo.

Las especies de *Dryopteris* que habitan el Cono Sur de América presentan una ornamentación rugada. La misma está conformada por pliegues de dimensiones variables de longitud, anchura y altura. En cuanto a la morfología de los pliegues, estos pueden ser subglobosos, lineares, sinuosos o ramificados en forma de Y o C. Pueden estar parcial o totalmente fusionados formando retículos completos o incompletos. Los tipos de superficie hallados fueron: equinulado, rugulado-reticulado y rugulado o rugulado-foveolado. Esta variación en la superficie de las esporas de las 4 especies aquí estudiadas puede deberse a que pertenecen a 4 secciones distintas dentro del subgénero *Dryopteris*.

El color de las esporas es un carácter que puede ser considerado de utilidad para diferenciar las especies dentro del género. De esta forma, las esporas de *D. patula* son de color castaño oscuro, las esporas de *D. filix-mas* son de color pardo verdoso y las esporas de *D. dilatata* y *D. wallichiana* son de color castaño.

La estratificación y la ultraestructura en las especies analizadas del género son muy semejantes. El esporoderma está conformado por un exosporio liso y un perisporio que forma la ornamentación de las esporas mediante pliegues de dimensiones variables. Tanto el exosporio como el perisporio están constituidos por 2 capas diferenciables por grosor y contraste. En el exosporio, la capa interna es más delgada y está más contrastada que la externa. En el perisporio, la capa interna es la más ancha y es la que forma la ornamentación mientras que la capa externa es más delgada, menos contrastada y es la que tapiza las superficies internas y externas de los pliegues.

Se hallaron esporas malformadas en *D. wallichiana* y *D. patula* con tamaño irregular, triangulares, globosas, retorcidas y de color más opaco o más brillante que las normales.

Las anomalías y malformaciones observadas en ambos géneros contemplan alteraciones en su ciclo de vida, aunque no son características por sí mismas diagnósticas de hibridación o apogamia.

A partir del análisis estadístico se encontraron 3 grandes grupos de especies en el género *Ctenitis*. El primer grupo está constituido por *C. ampla*, *C. aspidioides* y *C. nervata*, que poseen las medidas significativamente superiores al resto de las especies. El segundo grupo se compone de *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. distans*, *C. falciculata*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis* que son las especies que se han agrupado en general como las especies con medidas intermedias, y por último, *C. deflexa* es la especie significativamente menor en todos los diámetros analizados. Estas agrupaciones también se evidencian en características morfológicas del esporofito, como en el caso de *C. aspidioides* y *C. nervata* cuyas pinnas poseen una incisión de 1/4-2/3 la distancia entre el ápice del segmento y la costa o que *C. deflexa* es la única especie del género en el Cono Sur de América que posee un rizoma rastrero.

La especie que estadísticamente mostró las mayores medidas dentro de *Dryopteris* fue *D. filix-mas*. Esta especie posee valores significativamente mayores en el diámetro ecuatorial mayor respecto de *D. patula* y *D. wallichiana*. Asimismo, también es la especie que posee la lesura significativamente mayor dentro de las especies del género analizadas. *D. dilatata* es la especie que mostró el diámetro ecuatorial menor significativamente menor con respecto al resto de las especies. El diámetro polar ha sido el único carácter que no arrojó diferencias estadísticamente significativas entre las especies.

Las especies *D. patula* y *D. wallichiana* se han agrupado en todas las variables analizadas y no han mostrado diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los caracteres. Esto puede deberse a que son especies emparentadas dentro del clado sudamericano y comparten similares características de hábitat, aunque la morfología del esporofito muestra grandes diferencias entre una y otra especie.

Dentro del Cono Sur, se puede evidenciar que el diámetro ecuatorial mayor y el diámetro polar son las medidas más constantes y con menor variación interna dentro de los 2 géneros analizados.

De esta manera, el estudio aquí llevado a cabo ha ampliado y compilado la información palinológica de los géneros *Ctenitis* y *Dryopteris* a través del análisis de la estructura y ultraestructura de sus esporas, como aporte a estudios palinológicos, sistemáticos y reproductivos en helechos neotropicales.

ABSTRACT

The morphology and ultrastructure of the spores of the genera *Ctenitis* (C. Chr.) C. Chr. And *Dryopteris* Adans. (Dryopteridaceae) that grow in the Southern Cone of America were studied using light microscopy (LM), scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). The Southern Cone of America covers the entire territories of Chile, Uruguay, Paraguay, Argentina (including the Falkland Islands) and 3 southern states of Brazil (Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul). The study was carried out with herbarium material from national and international institutions.

The Dryopteridaceae family constitutes a monophyletic group and is one of the largest and most diverse within leptosporangiate ferns. It contains around 26 genera and 2,115 species distributed throughout the world. The family does not have any morphological synapomorphy, although it can be recognized by a combination of characters: the petiole with several vascular bundles, mostly non-anastomosed veins and usually non-included veins, basefixed scales, monolete spores and a chromosomal number of $x=41$. Within this family, *Ctenitis* with 125 species and *Dryopteris* with 400 species are two of the genera with the highest number of taxa.

The species cited for the study area are 16 for the *Ctenitis* genus: *C. abyssi* (Sehnem) Salino & Morais, *C. ampla* (Humb. & Bonpl. Ex Willd.) Ching, *C. anniesii* (Rosenst.) Copel., *C. aspidiodes* (Presl.) Copel., *C. bigarellae* Schwartsb., Labiak & Salino, *C. deflexa* (Kaulf.) Copel., *C. distans* (Brack.) Ching, *C. eriocaulis* (Fée) Alston, *C. falciculata* (Raddi) Ching, *C. fenestralis* (C. Chr.) Copel., *C. flexuosa* (Fée) Copel., *C. glandulosa* R. S. Viveros & Salino, *C. laetevirens* (Rosenst.) Salino & Morais, *C. nervata* (H. Christ.) Copel., *C. paranaensis* (C. Chr.) Lellinger, and *C. submarginalis* (Langsd. & Fisch.) Ching.; and 4 species for *Dryopteris* genus: *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *D. filix-mas* (L.) Schott, *D. patula* (Sw.) Underw. and *D. wallichiana* (Spreng.) Hyl.

The genus *Ctenitis* is characterized by the presence of catenated trichomes on the adaxial surface of the petiole, rachis and coasts and by the culmination of the veins in fine points. *Ctenitis* is a genus of distribution essentially pantropical, with a large number of species in the Neotropics that grow mainly in the rainforest floors, at medium and low elevations.

The *Dryopteris* genus is characterized by a petiole furrowed on the adaxial face decurrent with the lower axes and rounded sori with an indusia fixed by the breast. It has a practically cosmopolitan distribution, it can be found in forests or alpine or rocky areas of temperate or sub-temperate latitudes.

The quantitative characteristics analyzed in the spores were the equatorial diameters, polar diameters and the length of the laesura. These variables were statistically analyzed to verify if there were interspecific differences within each genus. The analyzed qualitative characteristics were: aperture, symmetry, color, shape, surface, structure and ultrastructure.

Spores of the genus *Ctenitis* are monolete, bilaterally symmetrical (-sub-radial), light brown to dark brown. The outline in equatorial view is plane to convex and ellipsoidal (-sub-circular) in polar view. The largest equatorial diameter is 28 (38.6) 50.4 μm , the smallest equatorial diameter is 14.7 (29.1) 43.1 μm , the polar diameter 18.2 (28.8) 44.1 μm and the laesura is 8.4 (21.5) 43.4 μm long.

The morphology of the spores in the species of the genus *Ctenitis* is divided into 2 major ornamental types: the equinate and the rugate. Species with rugated spores are those that also have a 1-pinnate-pinnatifid blade, while *C. ampla* is the only species within the genus in the Southern Cone of America with equinate spores and 2-4-pinnate-pinnatifid blade.

In the case of the rugate type, the ornamentation consists of variable dimensions folds. Regarding their morphology, they can be linear, sinuous, subglobose, handle-shaped, which may or may not be regularly distributed throughout the spore. The folds may be partially fused and in some cases may have Y-shaped branches. The macroornamentation is the characteristic with the greatest variability within the rugated type. The perispore surface is similar in the majority of the species and can be micro-verrucous, rugulated or fine to densely scabrated between the folds and psilated to scabrated on the folds.

The echinate type was observed only in the *C. ampla* spores. The ornamentation is made up of conical spines, with a broad base and an attenuated apex, hollow inside. The base of the spines can be smooth or have cords that connect with the bases of other spines.

The color of the spores of the genus varies from light brown to brown, with the exception of *C. bigarellae*, in which case the color of its spores is dark brown.

The stratification and ultrastructure in the analyzed species of *Ctenitis* are very similar. The sporoderm is made up of a smooth exospore and a perispore that forms the ornamentation of the spores by means of variable dimensions folds. Both the exospore and the perispore are constituted by two differentiable layers by thickness and contrast. In the exospore, the inner layer is thinner and more contrasted than the outer layer. In the perispore, the inner layer is the widest and is the one that forms the ornamentation while

the outer layer is thinner less contrasted and is the one that covers the internal and external surfaces of the folds.

Immature, solitary, or tetrad-like aggregations were found in *C. fenestralis*. On the other hand, the *C. laetevirens* sporangia analyzed were found to be completely aborted, blackish and without spores.

Dryopteris spores are monolete, bilaterally symmetrical, light brown, greenish brown, or dark brown. The outline in equatorial view is flat to convex (-lightly hemispherical) and ellipsoidal in polar view. The largest equatorial diameter is 36.7 (48.9) 63 μm , the equatorial diameter less than 27.1 (33.3) 40.2 μm , the polar diameter 28 (34) 45.5 μm and the laesura it is 17.5 (28.2) 42 μm long.

The *Dryopteris* species that inhabit the Southern Cone of America have rugated ornamentation. It is made up of folds of variable dimensions in length, width and height. Regarding the morphology of the folds, these can be subglobose, linear, sinuous or branched in the shape of Y or C. They can be partially or totally fused, forming complete or incomplete reticles. The types of surface found were: echinulate, regulated-reticulated and rugulated or rugulated-foveolated. This variation in the surface of the spores of the 4 species studied here may be due to the fact that they belong to 4 different sections within the subgenus *Dryopteris*.

The color of the spores is a character that can be considered useful to differentiate the species within the genus. Thus, the spores of *D. patula* are dark brown, the spores of *D. filix-mas* are greenish-brown and the spores of *D. dilatata* and *D. wallichiana* are brown, however, the latter 2 species can be easily differentiated by the characteristics of the perispore surface.

The stratification and ultrastructure in the analyzed species of the genus are very similar. The sporoderm is made up of a smooth exospore and a perispore that forms the ornamentation of the spores by means of folds variable dimensions. Both the exospore and the perispore are constituted by 2 differentiable layers by thickness and contrast. In the exospore, the inner layer is thinner and more contrasted than the outer layer. In the perispore, the inner layer is the widest and is the one that forms the ornamentation while the outer layer is thinner, less contrasted and is the one that covers the internal and external surfaces of the folds.

Malformed spores were found in *D. wallichiana* and *D. patula* with irregular size, triangular, globose, twisted and opaque or bright color.

The anomalies and malformations observed in both genera contemplate alterations in their life cycle, although they are not in themselves diagnostic of hybridization or apogamy.

From the statistical analysis, 3 large groups of species were found in the genus *Ctenitis*. The first group consists of *C. ampla*, *C. aspidioides* and *C. nervata*, which have significantly higher measurements than the rest of the species. The second group is made up of *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. distans*, *C. falciculata*, *C. paranaensis* and *C. submarginalis* which are the species that have been grouped in general as the species with intermediate measures, and finally, *C. deflexa* is the significantly smaller species in all diameters analyzed. These clusters are also evidenced in the morphological characteristics of the sporophyte, as in the case of *C. aspidioides* and *C. nervata* whose pinnae have an incision of 1/4-2/3 the distance between the apex of the segment to the coast or that *C. deflexa* is the only species of the genus in the Southern Cone of America that has a creeping rhizome.

The species that statistically showed the highest measurements within the *Dryopteris* genus was *D. filix-mas*. This species has significantly higher values in the greater equatorial diameter with respect to *D. patula* and *D. wallichiana*. Likewise, it is also the species that has the significantly greater laesura within the genus species analyzed. *D. dilatata* is the species that showed the smallest equatorial diameter significantly smaller with respect to the rest of the species. The polar diameter was the only character that did not show statistically significant differences between the species.

The *D. patula* and *D. wallichiana* species have been grouped in all the variables analyzed and have not shown statistically significant differences in any of the characters. This may be due to the fact that they are related species within the South American clade and share similar habitat characteristics, although the morphology of the sporophyte shows great differences between one species and another.

Within the Southern Cone, it can be established that the largest equatorial diameter and the polar diameter are the most constant measurements and with the least internal variation within the 2 genera analyzed.

In this way, the study carried out here has expanded and compiled the palynological information of the genera *Ctenitis* and *Dryopteris* through the analysis of the morphology and ultrastructure of their spores, as a contribution to palynological, systematic and reproductive studies in neotropical ferns.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. PRESENTACIÓN DEL TEMA

Las esporas de los helechos reúnen en sus paredes valiosos datos para interpretar su supervivencia, viabilidad, dispersión, reproducción y relaciones filogenéticas. La familia Dryopteridaceae constituye un grupo monofilético de helechos leptosporangiados que incluye a alrededor de 26 géneros y 2115 especies de distribución cosmopolita (Liu et al., 2016; PPG I, 2016). Dentro de esta familia, *Ctenitis* (C. Chr.) C. Chr. con 125 especies y *Dryopteris* Adans. con 400 especies son dos de los géneros con mayor número de taxones (Mickel y Smith, 2004; Smith et al., 2006; Kuo et al. 2016; Duan et al. 2017). De acuerdo a estudios filogenéticos basados en datos moleculares, *Ctenitis* y *Dryopteris* junto con otros géneros comparten el clado de los helechos dryopteroideos (Schuettelpelz y Pryer, 2007).

Ctenitis cuenta con alrededor de 50 especies en el Neotrópico (Viveros et al., 2018), se caracteriza por la presencia de tricomas catenados (también llamados pelos ctenitoides) en la superficie adaxial de pecíolo, raquis y costas, por la finalización atenuada y delgada de las venas y por la vena basiscópica basal de la pínula distal surgiendo de la cóstula. Sus esporas son monolete, equinadas o plegadas.

Por su parte, *Dryopteris* posee aproximadamente 20 especies en el Neotrópico (Kessler et al., 2018) y se caracteriza por presentar rizomas escamosos, frondes en rosetas, ejes con surcos decurrentes y soros redondeados. Las esporas son monolete principalmente plegadas o también equinuladas o crestadas (Tryon y Lugardon, 1991).

En esta tesis, el estudio se abocó a las especies citadas para el Cono Sur de América Meridional (Zuloaga et al., 2019) que incluye la totalidad de los territorios de Argentina (incluidas las Islas Malvinas), Chile, Uruguay, Paraguay y los 3 estados del sur de Brasil (Paraná, Rio Grande do Sul y Santa Catarina). Para esta área son citadas 16 especies del género *Ctenitis*: *C. abyssi* (Sehnem) Salino & Morais, *C. ampla* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Ching, *C. anniesii* (Rosenst.) Copel., *C. aspidiodes* (Presl.) Copel., *C. bigarellae* Schwartsb., Labiak & Salino, *C. deflexa* (Kaulf.) Copel., *C. distans* (Brack.) Ching, *C. eriocaulis* (Fée) Alston, *C. falciculata* (Raddi) Ching, *C. fenestralis* (C. Chr.) Copel., *C. flexuosa* (Fée) Copel., *C. glandulosa* R. S. Viveros & Salino, *C. laetevirens* (Rosenst.) Salino & Morais, *C. nervata* (H. Christ.) Copel., *C. paranaensis* (C. Chr.) Lellinger, y *C. submarginalis* (Langsd. & Fisch.) Ching.

El género *Ctenitis* es muy diverso en Brasil, especialmente en la mata atlántica donde alberga 20 especies, de las cuales 13 son endémicas. En Argentina se distribuye en el noroeste y litoral, hasta la Provincia de Buenos Aires donde se encuentra su límite de distribución austral.

En cuanto a *Dryopteris*, en el área de estudio crecen 4 especies: *D. patula* (Sw.) Underw. y *D. wallichiana* (Spreng.) Hyl. en las yungas del noroeste de Argentina, *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray naturalizada en las Islas Malvinas y *D. filix-mas* (L.) Schott de amplia distribución mundial y naturalizada en la Patagonia de Argentina y Chile (de la Sota et al., 1998; Salino y Ponce, 2008; Salino et al., 2009).

A pesar de la diversidad específica de *Ctenitis* y *Dryopteris*, con una amplia distribución en América, sus esporas han sido muy poco estudiadas. Tryon y Tryon (1982) sugieren la necesidad de realizar análisis sobre las esporas de *Ctenitis* para ser utilizadas en una adecuada clasificación infragenérica. Por otro lado, estos mismos autores mencionan para *Dryopteris*, la presencia de híbridos y especies con reproducción apogámica, características que se evidencian al realizar el estudio de las esporas (Wagner Jr. y Chen, 1965).

Entre las contribuciones de estudios palinológicos de especies americanas podemos mencionar a Moy (1988) que estudia las esporas de 5 especies de *Ctenitis* principalmente del norte de Sudamérica y Lebrão et al. (2014) que analizaron 3 especies del mismo género en el centro de Brasil. Diversos trabajos sobre las esporas de *Dryopteris* que crecen en Norteamérica han sido llevados a cabo por Britton (1968, 1972a, 1972b) y Britton y Jermy (1974). Tryon y Lugardon (1991) analizaron con microscopía electrónica de barrido las esporas de varias especies de ambos géneros que crecen en Centroamérica y el Norte de América del Sur. En cuanto a los estudios ultraestructurales, estos autores sólo ilustran material de México en el caso de *Ctenitis* y de especies europeas para *Dryopteris*.

Los antecedentes antes mencionados evidencian que las esporas de los taxones que crecen en el Cono Sur prácticamente no han sido estudiadas, lo que constituye una carencia fundamental para estudios sistemáticos, filogenéticos, reproductivos, paleopalinológicos y aerobiológicos que se desarrollen sobre el grupo. Además, las esporas de ningún taxón de ambos géneros han sido analizadas al microscopio electrónico de transmisión en el Cono Sur, por lo cual, la ultraestructura de las paredes es aún desconocida.

1.2. ANTECEDENTES

1.2.1. LA FAMILIA DRYOPTERIDACEAE

La familia Dryopteridaceae es la más grande y diversa dentro de los helechos leptosporangiados con un estimado de 2115 especies (León Parra y Murillo, 2005; Smith et al., 2006; Zhang et al., 2013; PPG I, 2016). Posee una distribución cosmopolita y su centro de diversidad se encuentra en el sudeste de Asia (Zhang et al., 2013). La monofilia de esta familia ha sido bien soportada por estudios filogenéticos moleculares (Schuettpelez y Pryer, 2007). Sin embargo, no está soportada por ninguna sinapomorfía morfológica, anatómica o citológica (Labiak et al., 2014; Moran et al., 2014; Kessler et al., 2018). No obstante, casi todos los miembros pueden ser reconocidos por una combinación de caracteres: el pecíolo vascularizado con varios haces vasculares adaxiales y varios pequeños abaxiales, venas mayoritariamente no anastomosadas y usualmente venillas no inclusas, escamas basifijas, esporas monolete y un número cromosómico de $x=41$ (Tryon y Lugardon, 1991; Sundue y Rothfels, 2014; Labiak et al., 2014; Kessler et al., 2018).

Las Dryopteridaceae son una familia cosmopolita y aunque es más diversa en latitudes tropicales, es una de las más importantes en regiones templadas y su alta riqueza específica se ve reflejada en un amplio rango de formas de vida. De esta manera, la diversidad morfológica de la familia se aprecia en una extensa gama de adaptaciones morfológicas y ecológicas, por ejemplo, las formas de vida pueden ser terrestres hasta reptantes, hemiepífitos y verdaderos epífitos (Kessler et al., 2018). Las escamas de los ejes y láminas son conspicuas en muchas especies y cumplen diversas funciones, como la protección contra la radiación solar (Watkins Jr. et al., 2006) o ayudar en la captación de agua (Schwerbrock y Leuschner, 2017). Es una de las familias donde es muy común el dimorfismo foliar (Watkins Jr. et al., 2016) y finalmente, muestra gran variabilidad en asociaciones micorrícicas (Lehnert et al., 2017).

La circunscripción de la familia Dryopteridaceae ha sido históricamente controvertida (Pichi Sermolli, 1977; Ching, 1978; Tryon y Tryon, 1982; Kramer, 1990). Ching (1978) trató a las Dryopteridaceae en sentido estricto con 14 géneros, mientras que otros autores la definieron en un sentido más amplio con 32-52 géneros (Pichi Sermolli, 1977; Tryon y Tryon, 1982; Kramer, 1990). La principal controversia entre las diferentes clasificaciones se basó en incluir o no a varios conjuntos de helechos. Estos grupos fueron tratados como tribus de la familia (Tryon y Tryon, 1982), como subfamilias (Crabbe et al., 1975) y finalmente como familias (Pichi Sermolli, 1977).

Posteriormente, otros trabajos en donde las relaciones interfamiliares se basaron en estudios moleculares mostraron que las Dryopteridaceae sensu Kramer (1990) no fue considerado un grupo monofilético (Hasebe et al., 1995). Distintos análisis moleculares se han centrado en pequeños subconjuntos taxonómicos de la familia (Gastony y Ungerer, 1997; Sano et al., 2000; Little y Barrington, 2003; Li et al., 2004; Lu et al., 2005, 2007; Li y Lu, 2006a, 2006b; Liu et al., 2007) o un área geográfica (Geiger y Ranker, 2005).

Basado en el consenso de una variedad de evidencias morfológicas y moleculares, Smith et al. (2006) propusieron una nueva clasificación familiar para las Dryopteridaceae, que fueron tomadas como un grupo monofilético de 40–45 géneros con cerca de 1700 especies.

No obstante, en los últimos años, los trabajos de filogenias moleculares de la familia fueron en crecimiento, descubriéndose que las Dryopteridaceae son la más grande familia de helechos (Smith et al., 2006; Zhang et al., 2013; PPG I, 2016) pero no poseen una sinapomorfia morfológica (Moran et al., 2014; Kessler et al., 2018). Se la incluyó en el suborden Polypodiineae (PPG I, 2016), un grupo caracterizado por varios haces vasculares en el pecíolo con 2 de ellos ligados en la parte adaxial. Actualmente, la familia posee 26 géneros y unas 2115 especies (Zhang et al., 2013; PPG I, 2016) de las cuales, más del 70% pertenecen a 4 géneros: *Elaphoglossum* Schott Ex J. Sm., *Polystichum* Roth, *Dryopteris* Adans. y *Ctenitis* (C. Chr.) C. Chr. (Smith et al., 2006; Zhang et al., 2013; PPG I, 2016).

Así, de acuerdo con los últimos aportes, la familia Dryopteridaceae incluye 3 subfamilias, 26 géneros y un estimado de 2115 especies (Smith et al., 2006; Zhang et al., 2013; Labiak et al., 2014; PPG I, 2016; Viveros et al., 2018). La subfamilia Dryopteridoideae contiene 6 géneros y 1228 especies, donde están incluidos *Ctenitis* con alrededor de 125 especies y *Dryopteris* con alrededor de 400 (PPG I, 2016). En América del Sur las especies de *Ctenitis* son 23 (Viveros et al., 2018) y las de *Dryopteris* tan solo 7 (Tryon y Stolze, 1991; Prado et al., 2014; Ponce y Arana, 2016; Kessler et al., 2018).

La familia Dryopteridaceae presenta esporas del estilo derivado, de acuerdo a Tryon y Lugardon (1991). Esto se debe a que la pared de las esporas está formada por un perisporio desarrollado, mientras que el exosporio es relativamente plano, más delgado y del tipo blechnoide. Las esporas que presenta la familia son monolete, elipsoidales a esferoidales y los principales rasgos ornamentales son los pliegues, aunque también puede presentar equinas y crestas.

En esta tesis el estudio se abocó a las especies citadas para el Cono Sur de América Meridional (Zuloaga et al., 2019), el cual incluye la totalidad de los territorios de Chile, Uruguay, Paraguay, Argentina (incluidas las Islas Malvinas) y los 3 estados del sur de Brasil (Paraná, Rio Grande do Sul y Santa Catarina). De esta manera, en este estudio se incluyen 16 especies para el género *Ctenitis* y 4 para el género *Dryopteris*.

1.2.2. EL GÉNERO *DRYOPTERIS*

El género *Dryopteris* está caracterizado por un pecíolo surcado en la cara adaxial que es decurrente con los ejes inferiores, soros redondeados con un indusio fijo por el seno y orbicular-reniforme (García y Salino, 2008; Ponce y Martínez, 2012). Posee una distribución prácticamente cosmopolita, puede ser encontrado a lo largo de todo el mundo en bosques o zonas alpinas o rocosas de latitudes templadas o subtempladas, regiones montanas tropicales o subtropicales principalmente del hemisferio norte pero también aparecen en regiones templadas del hemisferio sur, en donde es menos común. De esta forma, se encuentra presente en todos los continentes salvo Antártida. El principal centro de diversidad es la región del Himalaya y el suroeste de China, con centros secundarios en el sureste de Asia (incluyendo a Japón y Taiwán, las islas del Pacífico, el sur de India y Sri Lanka), el sur y este de África (incluyendo a Madagascar), Europa (incluyendo las Islas Mascarenas), y el oeste de América del Norte, Central (principalmente México) y del Sur (Walker, 1955; Gibby y Walker, 1977; Carlson y Wagner Jr., 1982; Fraser-Jenkins, 1986; Roux, 2011; Sessa et al., 2015).

Dryopteris Adans., Fam. Plantes 2:20. 551. 1763, *nom. Conserv.* TYPE: *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott

Plantas terrestres o rupícolas, raramente epífitas; *Rizoma* recto u oblicuamente ascendente, corto, robusto, raramente reptante, ápice densamente escamoso; *escamas* no clatradas, ferruginosas, marrones o negras, ovadas, lanceoladas, enteras o escasamente dentadas o fimbriadas; *frondes* monomorfas, erectas o péndulas, cespitosas, a veces arregladas en espiral, segmentos catádromos, raramente anádromos; *pecíolo* no articulado con varios haces vasculares en la base, pajizo a castaño rojizo, escamoso, especialmente en la base, con escamas similares a las del rizoma, porta un surco en la cara adaxial, el cual es continuo con el raquis y éste continuo con la costa; *lámina* anchamente lanceolada, oblonga, deltoide-ovada, ápice gradualmente reducido, 1-4-(5)-pinnada, papirosa o coriácea raramente herbácea con o sin pelos adaxialmente, glabra o glandular abaxialmente, comúnmente escamosa, escamas lineares a lanceoladas, buladas o

aplanadas, de base cordada o truncada, ápice subulado, entero o fimbriado en los bordes; *últimos segmentos* con base redondeada y equilateral o raramente cuneada e inequilateral, margen usualmente serrado, raramente espinuloso; *venas* siempre libres, una a varias veces divididas, todas terminando en un hidatodo corto en el margen de la fronde; *soro* orbicular, indusiado, raramente sin indusio; *indusio* persistente, reniforme, orbicular u orbicular-reniforme, raramente en forma de herradura, globoso o subgloboso, generalmente entero, liso o muy raramente con margen eroso, plano o curvo hacia abajo, amarronado, algo grueso, ligado por un seno profundo a las venas o venillas, con pelos glandulares o glabro; *esporas* monolete; *número cromosómico* $n=41$ (Tryon y Tryon, 1982; Fraser-Jenkins, 1986; Ponce y Martínez, 2012; Kessler et al., 2018).

Las especies tratadas en esta tesis son: *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *D. filix-mas* (L.) Schott, *D. patula* (Sw.) Underw. y *D. wallichiana* (Spreng.) Hyl.

Las clasificaciones subgenéricas que han sido publicadas se basaron exclusivamente en la morfología y regiones específicas. La clasificación propuesta por Ching (1938) está mayoritariamente basada en los *Dryopteris* del Himalaya y divide al género en 2 subgéneros. La clasificación de Itô (1935, 1936a, 1936b, 1936c, 1939) incluye las especies japonesas del género. Wu y Lu (2000) dividió a los *Dryopteris* de China en 3 subgéneros en base a la morfología de las escamas y de la lámina. Mientras que una de las clasificaciones más aceptadas es la propuesta por Fraser-Jenkins (1986), en la cual divide al género en 4 subgéneros que incluyen 16 secciones, conteniendo alrededor de 225 especies a lo largo del mundo, reconociendo además que el género presenta muchos complejos de híbridos, reconociendo unos 89.

Las 4 especies de *Dryopteris* que se incluyen en el presente estudio, según la clasificación propuesta por Fraser-Jenkins (1986), se encuentran en diferentes secciones dentro del subgénero *Dryopteris*.

El subgénero *Dryopteris* está en todo el rango de distribución del género y es el único subgénero presente en Europa y la mayoría de América del Norte y del Sur y África. La sección *Fibrillosae* Ching contiene alrededor de 20 especies distribuidas por casi todos los continentes exceptuando América del Norte. Muchas de las especies son aparentemente derivadas de *D. wallichiana* o especies cercanas por hibridación. Además, la mayoría de las especies de la sección son apogámicas. La sección *Dryopteris* contiene unas 15 especies distribuidas principalmente a través del Hemisferio norte en regiones templadas. A esta sección pertenece *D. filix-mas*. La sección *Cinnamomeae* Fraser-Jenkins contiene unas 12 especies principalmente en América Central y del Sur,

incluyendo a *D. patula*. La sección *Lophodium* (Newman) C. Chr. Ex H. Itô contiene unas 10 especies a través de zonas templadas del Hemisferio norte, las Islas Mascarenas y África, solo una especie introducida en Islas Malvinas, *D. dilatata*.

No obstante, los estudios moleculares llevados a cabo por Geiger y Ranker (2005), Li y Lu (2006a, 2006b), Sessa et al. (2012a) y Zhang et al. (2012) sugieren fuertemente una revisión de los actuales taxa supraespecíficos (subgéneros y secciones de Fraser-Jenkins, 1986). Esta sugerencia se basa en que tanto Sessa et al. (2012a) como Zhang et al. (2012) encontraron que entre el 70 y el 95 % de los taxa supraespecíficos no son monofiléticos.

Análisis filogenéticos recientes (Sessa et al., 2012a, 2012c) muestran que los taxa norteamericanos de *Dryopteris* no son un grupo monofilético. Sin embargo, la mayoría de las especies de América Central y del Sur forman un único clado fuertemente soportado. Esto último concuerda con lo propuesto por Mickel y Smith (2004), ya que ellos afirman que las especies de América Central y del Sur son endémicas de la región con la única excepción de *D. wallichiana* que posee un rango cercano al circumtropical.

Si bien se han realizado estudios sobre el género en América (Sessa et al., 2012a, 2012b, 2012c), Asia (Li y Lu, 2006a, b; Zhang et al., 2012), Europa (Juslén et al., 2011) y el sur de Sahara en África e islas del Océano Índico (Sessa et al., 2017). Las disputas por su circunscripción continúan y demostraron que la clasificación morfológica propuesta por Fraser-Jenkins (1986) no está soportada.

1.2.3. EL GÉNERO *CTENITIS*

El género *Ctenitis* está caracterizado por la presencia de tricomas catenados, también llamados pelos ctenitoides, en la superficie adaxial del pecíolo, raquis y costas, por la culminación de las venas en puntas finas y por la vena basiscópica basal de las pinnas, o segmentos distales, surgiendo de la cóstula, raramente de la costa (Viveros y Salino, 2015; Viveros y Salino, 2017). *Ctenitis* es un género de distribución esencialmente pantropical, con un gran número de especies en el Neotrópico que crecen principalmente en los pisos de selvas lluviosas, en elevaciones medias y bajas (Mickel y Smith, 2004). En los últimos años se han realizado nuevas combinaciones y descripciones de nuevas especies en esta región (Salino y Morais, 2003; Schwartsburd et al., 2007; Viveros y Salino, 2015; Viveros y Salino, 2017).

Ctenitis (C. Chr.) C. Chr. *Dryopteris* subgen. *Ctenitis* C. Chr. Tipo (designado por Ching 1938):-*Ctenitis distans* (Brackenridge, 1854: 192) Ching (1938: 277).

Terrestre o menos frecuentemente epipétrico; *rizoma* erecto o ascendente, a veces cortamente rastrero, escamoso, con escamas de 6-30 mm de longitud, portando viejas bases del pecíolo y raíces; *hojas* monomórficas, de 0.2-2.5 m de longitud, fasciculadas; *pecíolo* 2/3 a casi la misma longitud que la lámina con la base no engrosada, pajizo, castaño o más oscuro hacia la base, densamente escamoso en la base, disminuyendo hacia el ápice, las escamas son generalmente clatradas o subclatradas; *raquis* no surcado y con abundantes escamas; *lámina* lanceolada a deltoide, membranosa raramente coriácea, 1-4 pinnado-pinnatífida, ápice pinnatífido; *pinna* no articulada al raquis; *segmentos* con márgenes casi enteros a crenulados; *superficie adaxial de ejes principales* (pecíolo a costas) con tricomas catenados o “pelos ctenitoides” rojizos o marrones, no ramificados, articulados, con 2-4 células y 0.1-0.4 mm de longitud; *venas* libres, de puntas delgadas que terminan en o cerca del margen del segmento, simples o 1-3 divididas en los últimos segmentos, vena basiscópica basal de las pínulas distales surgen de la costa o muy cerca de la coyuntura con la costa; *soros* redondeados-reniformes, en una hilera entre la vena media y el margen; *indusio* redondeado-reniforme ligado al seno, grande o a veces pequeño e inconspicuo, persistente o ausente; *esporas* monolete; *número cromosómico* x= 41 (Tryon y Tryon, 1982; Ponce y Martínez, 2012; Duan et al., 2017; Kessler et al., 2018; Viveros et al., 2018).

Las especies tratadas en esta tesis son: *C. abyssi* (Sehnem) Salino & Morais, *C. ampla* (Humb. & Bonpl. Ex Willd.) Ching, *C. anniesii* (Rosenst.) Copel., *C. aspidiodes* (Presl.) Copel., *C. bigarellae* Schwartsb., Labiak & Salino, *C. deflexa* (Kaulf.) Copel., *C. distans* (Brack.) Ching, *C. eriocaulis* (Fée) Alston, *C. falciculata* (Raddi) Ching, *C. fenestralis* (C. Chr.) Copel., *C. flexuosa* (Fée) Copel., *C. glandulosa* R. S. Viveros & Salino, *C. laetevirens* (Rosenst.) Salino & Morais, *C. paranaensis* (C. Chr.) Lellinger, *C. nervata* (H. Christ.) Copel. y *C. submarginalis* (Langsd. & Fisch.) Ching.

La taxonomía de *Ctenitis* ha confundido a los sistemáticos por mucho tiempo. El género fue descrito por primera vez por Christensen (1913) como un subgénero de *Dryopteris*, basado en la aparición de pelos distintivos "ctenitoides" en la cara adaxial de los ejes de las frondes, antes de erigirse en el rango de género (Christensen, 1938).

En base a especies asiáticas, 2 subgéneros fueron reconocidos por Ching (1938) y 2 secciones con subsecciones por Itô (1939). Los miembros americanos, particularmente los tropicales, fueron catalogados en grupos informales de especies por Christensen (1913, 1920), basado en caracteres puramente morfológicos, principalmente en base al grado de división de la lámina, el indumento y el tipo de rizoma, reconociendo 3 grupos.

Así, el grupo 1-pinnado-pinnatífido y escamas no buladas engloba a la mayoría de las especies con más representantes en Sudamérica, incluyendo entre ellas a *C. distans*, *C. eriocaulis*, *C. falciculata* y *C. submarginalis*. Mientras que el otro grupo importante corresponde a las especies 2-4-pinnado-pinnatífidas y escamas no buladas, con más representantes en Mesoamérica, donde se encuentra incluida *C. ampla*. El tercer grupo, 1-pinnado-pinnatífido o 2-4-pinnado-pinnatífido con escamas buladas, son en su mayoría endémicas de las Indias Occidentales (Hennequin et al., 2017).

Estudios moleculares confirmaron la inclusión de *Ctenitis* en las Dryopteridaceae (Liu et al., 2016). Sin embargo, tan solo unas pocas especies del género se incluyeron en estudios filogenéticos, ya sea a gran escala (Schuettpelez y Pryer, 2007; Hennequin et al., 2017; Testo y Sundue, 2016), o enfocando en Dryopteridaceae (Liu et al. 2007, 2016) o Tectariaceae (Ding et al., 2014; Moran et al., 2014; Wang et al., 2014; Zhang et al., 2016, 2017). Debido a esto, Liu et al. (2016) sugieren que se necesitan estudios taxonómicos y filogenéticos que engloben en una perspectiva global e incluyan una mayor cantidad de taxones para elucidar y entender las relaciones del género dentro de la familia.

Según las clasificaciones de helechos más recientes, *Ctenitis* es el cuarto género de Dryopteridaceae en términos de riqueza de especies, con un estimado de 125 especies (PPG I, 2016). Se distribuyen por todo el trópico, con aproximadamente 50 especies en el Neotrópico (Viveros y Salino, 2015), 30 en la región Asia-Pacífico, excluyendo el Pacífico Sur, como Australia y Nueva Zelanda (Holttum 1984, 1985), una especie en África continental y 40 en las islas occidentales del Océano Índico (Duan et al., 2017). Varios taxones fueron incluidos por primera vez en *Ctenitis* como grupos informales por Christensen (1920) porque compartían características del indumento. Aunque más tarde fueron tratados como géneros separados, algunos han sido considerados cercanos a *Ctenitis*, en particular *Megalastrum* Holttum en Dryopteridaceae (Holttum, 1986a), y *Triplophyllum* Holttum, *Pseudotectaria* Tardieu y *Heterogonium* C.Presl en Tectariaceae (Holttum, 1983, 1986a, 1986b; Holttum y Lin, 1990).

Hennequin et al. (2017) proporcionó la primera filogenia contundente del género *Ctenitis*. Este estudio reveló un patrón biogeográfico que sugiere un origen boreotropical del género y migraciones posteriores, con un evento único de dispersión a larga distancia sobre el Océano Atlántico.

1.2.4. HIBRIDACIÓN, POLIPLOIDÍA Y ESPORAS

La hibridación y la formación de poliploides son importantes mecanismos evolutivos contribuyendo al desarrollo de nuevas especies en los helechos y otras plantas vasculares. La poliploidía parece ser particularmente común en los helechos y casi el 95% de las especies de ellos se supone que sufrieron poliploidización durante su historia evolutiva. En general, los poliploides son clasificados como alopoliploides y autopoliploides dependiendo en el grado de divergencia entre sus genomas parentales. Los alopoliploides resultan de hibridación interespecífica seguida de duplicación del genoma, mientras los autopoliploides se forman como resultado de duplicación genómica dentro de una única especie (Juslén et al., 2011).

La apomixis en helechos incluye 2 procesos asociados, la apogamia y la agamosporía, la primera consiste en la formación de esporofitos de células somáticas del protalo y la segunda consiste en producción de diplosporas no reducidas (Braithwaite, 1964). La agamosporía involucra la producción de esporas sin reducir seguido por reproducción apogámica en el gametofito.

La mayoría de helechos apomícticos son triploides (50-70%) o diploides (20-35%) (Lovis, 1977; Ekrt et al., 2009). En concordancia con esto, los agamospóricos triploides derivan de híbridos entre un sexual y un agamospórico diploides, o triploides entre diploides y tetraploides (Manton, 1950; Lovis, 1977; Walker, 1979). Siguiendo esta línea, la sección *fibrillosae* del subgénero *Dryopteris* consiste principalmente en helechos apomícticos, ya sea diploides o poliploides de mayor nivel (Ivanova, 2004) derivadas de *D. wallichiana* o especies relacionadas por hibridación con diploides sexuales (Roux, 2011). Esta especie está reportada como agamospórica triploide, tetraploide o incluso hexaploide (Loyal, 1959; Fraser-Jenkins y Corley, 1972; Fraser-Jenkins, 1976, 1989; Pérez-García et al., 2001; Geiger y Ranker, 2005).

Manton (1950) y Walker (1955, 1959) fueron los primeros en realizar estudios citogenéticos en el género *Dryopteris*, mientras que Duncan (1943), Manton y Walker (1954) y Kanamori (1967) fueron los primeros en estudiar la apogamia en el género. Estos autores aseguran que la poliploidía y la hibridación son abundantes y la relación entre las especies dentro del género se ven complejizadas ampliamente por estos procesos, ya que la generación de especies híbridas, poliploides y apomícticas crean problemas taxonómicos y filogenéticos además de biogeográficos (Fraser-Jenkins, 1986; Werth y Windham, 1991; Ponce, 1996). Estas premisas son sustentadas por las observaciones de

Fraser-jenkins (1989) para la India, donde cerca del 48% de las especies del género *Dryopteris* son poliploides y cerca del 41% son apomícticas.

Los híbridos de *Dryopteris* de América del Norte han sido estudiados por Montgomery y Paulton (1981) y Montgomery (1982), donde además, los estudios quimotaxonómicos han jugado un papel primordial en el entendimiento de las relaciones de éstos híbridos (Widén y Britton, 1971; Britton y Widén, 1974; Widén et al., 1975).

En relación a estos estudios, los miembros norteamericanos del género *Dryopteris* han recibido especial atención debido a la hipótesis de que varios taxa se originaron vía especiación híbrida y alopoliploidización, lo que consiste posteriormente en un clásico ejemplo de evolución reticulada, esto dio lugar a que en los últimos años diversos autores se enfocaran en este tema (Geiger y Ranker, 2005; Li y Lu, 2006a; Ekrt et al., 2010; Juslén et al., 2011; Sessa et al., 2012a, 2012b, 2012c; Zhang, 2012; Zhang y Zhang, 2012; Zhang et al., 2012; Roux, 2012; Lee y Park, 2013; Sessa y Givnish, 2014; Testo et al., 2015). Con este tipo de estudios, por ejemplo, se develó que *D. filix-mas* es un alotetraploide sexual derivado de *D. oreades* Fomin y *D. azorica* (Christ) Alston (Fraser-Jenkins, 1976, 1989; Fraser-Jenkins y Corley, 1972), y que *D. dilatata* también es un alotetraploide derivado de *D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenk. & Jermy y *D. azorica* (Gibby y Walker, 1977; Fraser-Jenkins, 1982).

Para Europa, particularmente para las Islas Británicas, Rünk et al. (2012) indican que es natural que si hibriden todas las especies y que los híbridos poseen generalmente una morfología intermedia entre las especies parentales o se asemejan más al progenitor de ploidía superior. En este sentido, Fraser-Jenkins (1981) arriba a la misma premisa que los autores anteriores y confirma que los híbridos se pueden detectar fácilmente en el campo por la morfología intermedia de las frondes y a veces por el vigor híbrido (gran tamaño), la madurez de los soros y las esporas.

Los híbridos de *Dryopteris*, en lugar de tener esporas regulares y con forma arriñonada, son abortadas e irregulares, normalmente con perisporio grueso y oscuro, con muchos fragmentos más pequeños. Esto es el resultado del fallo en la división celular debido mayoritariamente a la incapacidad de los cromosomas de diferentes genomas para aparearse durante la meiosis (Fraser-Jenkins, 1981).

En este sentido, Wagner Jr. y Chen (1965) utilizaron la presencia de esporas y esporangios abortados como herramienta para estandarizar patrones de detección de híbridos en *Dryopteris* de América del Norte, considerando principalmente el tamaño, la forma y el color, además de, sugerir que los poliploides muestran esporas más irregulares

que los diploides. Por su parte, Kanamori (1969) observó 3 tipos de esporas abortadas o estériles en algunas especies japonesas del género: 1) tipo enanas y encogidas: es el más común; 2) tipo irregularmente divididas: la última división no se llevó a cabo bajo condiciones normales en la esporogénesis, muestran varios tamaños y formas, incluso esporas trilete podrían ser vistas en un caso extremo; 3) tipo imperfectamente dividido: no están completamente divididas y aparecen formando agregados.

Con respecto al tamaño de las esporas en híbridos, Kanamori (1969) realizó un estudio de la esterilidad y variación del tamaño de las esporas en algunas especies japonesas de *Dryopteris*, concluyendo que la variación en las curvas de las esporas abortadas de los híbridos poseen valores extremos, con esporas de pequeño tamaño y de gran tamaño, sin la forma arriñonada típica, esféricas, retorcidas o agregadas, con un color opaco o muy oscuro. El incremento en el tamaño de las esporas en el género parece estar relacionado con el nivel de ploidía de la espora (Blasdell, 1963; Wagner Jr., 1966; Whittier, 1970; Whittier y Wagner Jr., 1971).

Ekrt y Koutecky (2016) realizaron un estudio donde han demostrado la existencia del modo reproductivo mixto en un híbrido de helecho sexual apomíctico, que producen dos tipos de esporas funcionalmente viables: diplosporas no reducidas (apomícticas) y esporas reducidas (sexuales). La existencia de esporas viables reducidas y la aparición de ambos tipos en una planta e incluso en un mismo esporangio es inesperada y novedosa. Además, ambos tipos de esporas son capaces de producir esporofitos exitosamente. Esto genera la confección de muchas interrelaciones y muchos de los complejos encontrados en el género son el resultado de la hibridación. Los híbridos y las formas apogámicas son frecuentes, aunque algunas de las especies son diploides, tetraploides y hasta hexaploides (todos fértiles), sin embargo, muchas de estas especies se reproducen apogámicamente más que sexualmente. Cuando especies fértiles hibridan se producen plantas estériles de varias ploidías y además los híbridos entre especies fértiles y apogámicas son posibles (Hoshizaki y Wilson, 1999). Los criterios para separar las especies dentro de los complejos del género son escasos y el hecho de que se puedan cruzar unas con otras, incrementa la dificultad de discernir entre ellas, por lo que la morfología por sí sola falla. Entonces, el desacuerdo entre las clasificaciones taxonómicas previas dentro del género pueden ser debido particularmente a la hibridación interespecífica y la poliploidización (Zhang et al., 2012).

En *Dryopteris* y probablemente en otros géneros con alto grado de interrelaciones entre especies y con variaciones dentro de ellas, prácticamente no existen características singulares fiables (Fraser-Jenkins, 1989).

En cuanto al género *Ctenitis*, son muy pocos los trabajos de esta índole llevados a cabo. La mayoría de las especies del género que han sido estudiadas a través de estudios citológicos se han manifestado como diploides o tetraploides. Tal como lo afirman Walker (1966, 1973) para Jamaica, Jarrett et al. (1968) para las Islas Galápagos, Bir (1996) para la India y Tryon y Tryon (1982) para Nueva Zelanda, Sri Lanka y Japón.

En lo que a los diferentes niveles de ploidía se refiere, Tryon y Lugardon (1991) afirman que las diferencias de tamaño dentro la misma especie pero en diferentes latitudes dentro de América puede reflejar diferentes niveles de ploidía, como se da en el caso de *C. submarginalis*.

Un estudio llevado a cabo por Smith y Mickel (1977) corrobora que para México no se registran híbridos del género *Ctenitis*. Hasta el presente, ningún estudio informa que el género presente híbridos en Sudamérica. No obstante, los esporangios de algunas especies sudamericanas analizadas por Viveros et al. (2018) fueron hallados atrofiados y abortados. Tal es el caso de *C. abyssis*, *C. aspidioides*, *C. fenestralis* y *C. laetevirens* y debido a esto, ejemplares de estas especies presentaron esporas deformes, poco desarrolladas o directamente no se hallaron. Este tipo de particularidades, donde los esporangios se ven atrofiados o negruzcos y las esporas son inmaduras o deformes son típicas de taxones híbridos o con problemas de esporogénesis.

1.2.5. REFERENCIAS PALEONTOLÓGICAS

Los registros fósiles de *Dryopteris* y de las Dryopteridaceae no permiten afirmar con claridad los orígenes del género y la familia (Sessa et al., 2012a). Se han descrito varios géneros por fuera de *Dryopteris* a partir de supuestos fósiles dryopteridáceos, incluidos *Allantodiopsis* y *Makopteris* (Collinson, 2001), *Wessiea* (Pigg y Rothwell, 2001; Serbet y Rothwell, 2006) y *Cuyenopteris* (Vera, 2010). Sin embargo, es improbable que algunos de estos fósiles previamente asignados a la familia pertenezcan a las Dryopteridaceae según lo definido por Smith et al. (2006). Esto se debe en gran parte a que se ha usado la definición más amplia de la familia, proporcionada por Kramer (1990), una definición que incluye géneros que ahora se consideran pertenecientes a familias en los Eupolipodios I y II, como Athyriaceae, Onocleaceae, Tectariaceae, Thelypteridaceae y Woodsiaceae (Smith et al., 2006; Schuettpelz y Pryer, 2007; Lehtonen, 2011; Lóriga et

al., 2014). Además, la mayoría de los fósiles de Dryopteridaceae que se han atribuido a *Dryopteris* carecen de caracteres apomórficos claros, lo que hace que su ubicación filogenética sea incierta incluso a nivel familiar (Collinson, 2001; Serbet y Rothwell, 2006; Vera, 2010; Le Pechón et al., 2016).

El género *Dryopterites* fue establecido por Berry (1911) para pinnulas y frondes fósiles, encontrados en el grupo Potomac (Cretácico inferior, Aptiano-Albiano), de la Formación Patuxent en Virginia, Estados Unidos, que recuerda al actual género *Dryopteris* pero no posee “caracteres diagnósticos concluyentes” y está muy pobremente preservado. Los caracteres foliares coincidían, a pesar de haberse basado en partes conocidas de la fronde, pinnulas, venación, soro, indusio y esporangio, pero las esporas son una característica desconocida (Skog y Litwin, 1995). Aun así, Deng (2002) afirma que para la provincia fitogeográfica del norte de China, se hallaron restos fósiles de *Dryopterites* y describió 3 especies para este género en base a órganos bien preservados in situ: frondes, soros, indusios, esporangios y esporas, cuyas características recuerdan al actual *Dryopteris*.

Los fósiles más antiguos atribuidos a *Dryopteris* son de hace 65 a 55 millones de años de China (Wang et al., 2006). El "*Dryopteris*" que es de la misma edad en la formación Fort Union del centro-oeste de los Estados Unidos (Brown, 1962) y del Eoceno/Oligoceno de Alaska (Wolfe, 1977) parecen estar mal identificados y es más probable que sean pertenecientes a la familia Thelypteridaceae (Collinson, 2001). Se conocen varios fósiles de *Dryopteris* mucho más recientes, identificadas desde el Mioceno medio a tardío para Rusia (Akhmetiev, 2009), Alaska (Wolfe et al., 1966; Wolfe y Tanai, 1980; Reinink-Smith y Leopold, 2005) e Islandia (Grímsson y Denk, 2007). Sin embargo, Sessa et al. (2017) afirman que el género divergió de su antecesor más cercano hace unos 42.4-32.5 millones de años.

Diversas esporas fósiles fueron asignados a las Dryopteridaceae (Cieraad y Lee, 2006), y particularmente a *Dryopteris* desde el Mioceno en adelante, así, para el Holoceno de Irlanda Occidental, Molloy y O’Connell (1991) hallaron esporas de *D. dilatata* y *D. filix-mas*; frondes de *Dryopteris* pertenecientes al Grupo Pleistoceno Kobiwako temprano (Mioceno) en el centro de Japón fueron mencionadas por Yamakawa y Konishi (2013); mientras que para América, Palacios Chávez y Rzedowski (1993) realizaron un estudio al norte de Chiapas, en el municipio de Pichucalco, cerca de los límites con los estados de Tabasco y Veracruz, donde identificaron e ilustraron con fotomicrografías esporas de *Dryopteris* del Mioceno inferior y principios del Mioceno medio.

En el caso de *Ctenitis*, se estima que la divergencia inicial del grupo ocurrió entre el Eoceno tardío y el Mioceno temprano. Hennequin et al. (2017) estimaron que la edad de divergencia del resto de los helechos dryopteroides es de 26 millones de años, anterior a los 17.5 millones de años publicada previamente por Schuettpelz y Pryer (2009). Este resultado probablemente es debido al mayor muestreo de taxones. Las especies existentes de *Ctenitis* prosperan bajo climas tropicales húmedos y Hennequin et al. (2017) suponen que el antepasado del género compartió sus preferencias de nicho climático con su descendencia existente. Sin embargo, una advertencia importante en el estudio de la historia biogeográfica de *Ctenitis* es la ausencia de este helecho en el registro paleontológico. Algunos pocos trabajos, como los de Yamakawa y Konishi (2013) mencionan frondes de *Ctenitis* pertenecientes al Grupo Pleistoceno Kobiwako temprano (Mioceno) en el centro de Japón y Graham (1991a, 1991b) identificó 31 palinomorfos fósiles del Plioceno de Panamá, entre las cuales incluye 3 morfotipos del género *Ctenitis* y todos son del tipo equinado.

Los análisis biogeográficos y de datación indican que el género se originó en Asia-Pacífico y el Neotrópico (Hennequin et al., 2017). En vista de su estimación de edad, una posible interpretación es que el género se originó en el cinturón forestal boreotropical que abarca Eurasia y América del Norte desde el Paleoceno hasta el Oligoceno temprano (Tiffney, 1985a, 1985b; Morley, 2003; Hennequin et al., 2017).

1.2.6. ANTECEDENTES DE ESTUDIOS PALINOLÓGICOS

Los trabajos palinológicos realizados sobre el género *Dryopteris* se basaron principalmente en la microscopía óptica y la microscopía electrónica de barrido. Existe tan solo un único antecedente con microscopía electrónica de transmisión que corresponde a especies de Francia, incluida *D. filix-mas* estudiadas por Tryon y Lugardon (1991).

Uno de los primeros en estudiar las esporas del género *Dryopteris* fue Crane (1953, 1955, 1956, 1960) para Norteamérica y Europa. La primera referencia hecha por Crane (1953) hace hincapié en los híbridos del género *Dryopteris* y la facilidad para distinguirlos por las características únicas de sus esporas. Sin embargo, refiere a que la determinación de los híbridos mediante el uso de las esporas debe ir acompañado de la morfología del esporofito, ya que las esporas de híbridos por sí solas no son completamente diagnósticas. Posteriormente, Crane (1955) realizó un estudio comparativo entre esporas diploides y tetraploides de *D. dilatata* en especímenes británicos y europeos, haciendo alusión a que

los microcaracteres son fundamentales para diferenciar un citotipo del otro. Crane (1956) realizó un estudio comparativo dentro del complejo “*cristata-clintoniana-spinulosa*”, y otras especies norteamericanas pertenecientes al género *Dryopteris*. Observó que varias especies poseían muchas similitudes y sugirió que era necesario un conteo cromosómico antes de sacar una conclusión. Esta serie de trabajos, permitieron la confección de una clave de especies del género de acuerdo a las características del perisporio (Crane, 1960). Esta clave enfatizó en la presencia/ausencia de espínulas en la superficie del perisporio, el tamaño de la espora, en la cantidad y tamaño de las alas y si éstas eran continuas o no.

Otra reseña hecha sobre las principales características del perisporio de algunas especies norteamericanas y del norte de México fue hecha por Reed (1952) quien ilustró con microscopio óptico las esporas de *D. filix-mas*, *D. dilatata* y *C. ampla*.

Subsiguientes autores estudiaron las esporas del género *Dryopteris* en América del Norte, como Britton (1972a, 1972b) quien estudió con microscopio electrónico de barrido las esporas de 2 complejos en Canadá y Estados Unidos, pertenecientes al género *Dryopteris*. En el primer caso, el complejo de *D. clintoniana* (D.C. Eaton) Dowell que incluye las siguientes especies: *D. clintoniana*, *D. goldiana* (Hook. Ex Goldie) A. Gray, *D. ludoviciana* (Kunze) Small, *D. celsa* (W. Palmer) Knowlt., Palmer & Pollard y *D. cristata* (L.) A. Gray, concluyó que la escultura del esporodermo es suficiente para distinguirlas. Mientras que el segundo grupo, el complejo *D. spinulosa* (O. F. Müll.) Watt compuesto por *D. intermedia* (Muhl. Ex Willd.) A. Gray, *D. dilatata*, *D. spinulosa*, *D. campyloptera* (Kunze) Clarkson y *D. assimilis* S. Walker, son todas especies con esporas espinulosas, cuya densidad y morfología de las espínulas varía entre y dentro de las especies, impidiendo una clara identificación usando solamente estos caracteres.

Britton y Jermy (1974) realizaron un aporte sobre la escultura del perisporio de *D. filix-mas* y algunas especies relacionadas tales como *D. arguta* (Kaulf.) Maxon, *D. marginalis* (L.) A. Gray y *D. fragrans* (L.) Schott. También hacen referencia al origen alotetraploide de la especie y postulan a 2 taxones (incluso uno de origen europeo) como sus antecesores: *D. abbreviata* Newman y *D. caucasica* (A. Braun) Fraser-Jenk. & M.F.V. Corley. Mientras que Belling y Hausser (1974) analizaron y midieron con microscopio óptico las esporas de 12 taxa norteamericanos de *Dryopteris* entre las que destaca *D. filix-mas*.

Para Europa, Crabbe et al. (1970) fue el primero en analizar la ornamentación de las esporas y el número cromosómico de *D. assimilis*, *D. carthusiana* (Vill.) H. P. Fuchs y *D. dilatata* de Gran Bretaña, Noruega y Suiza. Haciendo énfasis en la densidad, forma

y tamaño de las proyecciones, argumentó que estas 3 especies poseen citotipos distintos. El primero sería una especie diploide ancestral del complejo, mientras que las 2 restantes son alotetraploides, y que además, es común que se den entrecruzamiento entre ellas, formando especies híbridas.

En lo que respecta al continente asiático, Mitui (1972) investigó las esporas de 45 especies de *Dryopteris* en Japón, mostrando que la superficie del perisporio fue usado para determinar las relaciones dentro del género. Por su parte, Lee y Park (2014) analizaron la morfología de las esporas de 27 especies coreanas de *Dryopteris* con microscopio electrónico de barrido, donde observaron 3 tipos de perisporios, reconocidos en base a la forma de la macroornamentación: rugado, equinado y espinoso.

Una gran recopilación de datos palinológicos del género *Dryopteris* fue realizada por Tryon y Lugardon (1991). Estos autores examinaron las esporas de 54 especies del género con microscopio electrónico de barrido, provenientes de todos los continentes salvo Oceanía. En su estudio incluyeron a *D. patula* y *D. wallichiana* de México y Perú, respectivamente. También analizaron con microscopio electrónico de transmisión esporas de 4 especies francesas, incluyendo a *D. filix-mas*.

Especies como *D. patula* y *D. wallichiana* fueron analizadas por Tryon y Tryon (1982) en México, quienes muestran que las esporas son groseramente rugosas con una superficie finamente rugulosa. Además afirman que el perisporio está conformado por 2 estratos, el más externo formado por los pliegues propiamente dichos y uno interior entre los pliegues y el exosporio, que es ligeramente rugoso. Sin embargo, el tipo rugoso no es el único y las esporas de las especies del complejo *D. carthusiana* en regiones templadas de América y Europa se distinguen por una superficie más o menos espinulosa, aunque también pueden tener, lo que estos autores denominan “formaciones sacadas”, como en *D. cristata*, *D. intermedia* y *D. carthusiana*.

En lo que al género *Ctenitis* respecta, Tryon y Tryon (1982) afirman que las esporas de las especies tropicales de América poseen 2 formas básicas: equinadas o sacadas. Asimismo, cada uno de estos 2 patrones presentan una inusual diversidad en los detalles. Entre las especies con esporas equinadas, varias formas de equinas suelen estar representadas, desde groseras equinas como en *C. vellea* (Willd.) Proctor, hasta proyecciones asimétricas e irregulares en *C. hirta* (Sw.) Ching.

Murillo y Bless (1978) describieron e ilustraron con microscopio óptico las esporas de 4 especies de *Ctenitis* y una de *Dryopteris* de Colombia, incluyendo a *C. ampla* y *D.*

wallichiana, en uno de los pocos trabajos palinológicos relativos a estos géneros para América del Sur.

Por su parte, Tryon y Lugardon (1991) describieron e ilustraron las esporas de 22 especies de *Ctenitis* tanto de América (Brasil, Costa Rica, Cuba, Colombia, Jamaica, El Salvador, Perú, México) como del sureste asiático (China, Japón, Tahití), Islas del Pacífico (Nueva Guinea) y las Islas Reunión, en el este de África, mediante el uso de la microscopía electrónica de barrido. Describieron tamaño general, forma, superficie y estructura afirmando que las esporas americanas del género son de dos formas. Aquellas esporas pertenecientes al grupo de *C. submarginalis* tienen usualmente pliegues cortos e inflados, mientras que las del grupo de *C. ampla* son equinadas. También notaron grandes diferencias de tamaño, característica atribuida a diferencias en el nivel de ploidía, sugiriendo que las de mayor tamaño poseen un nivel de ploidía mayor. Por último, de las especies del Cono Sur, solo se describen brevemente a *C. ampla* y *C. submarginalis* mediante MEB.

En un estudio comparativo entre las esporas de distintos géneros americanos, Moy (1988) ilustró con microscopio electrónico de barrido las esporas equinadas de *C. ampla* proveniente de Venezuela, además de mencionar algunas características sobre el exosporio y perisporio y medidas de los ejes, incluyendo a otras especies del género, como *C. submarginalis*.

Por otra parte, Moy (1988) y Tryon y Lugardon (1991) son los únicos autores que utilizaron microscopía electrónica de transmisión en el género, entre las cuales, la única especie ilustrada que habita en el Cono Sur es *C. ampla*, con material proveniente de Venezuela.

Los últimos aportes sobre las esporas del género *Ctenitis* fueron realizados por Lebrão et al. (2014) quienes describieron con microscopio óptico las esporas de *C. aspidioides*, *C. distans* y *C. falciculata* para Brasil.

1.2.7. ANTECEDENTES PALINOLÓGICOS EN TRABAJOS FLORÍSTICOS

La información sobre las esporas del género *Dryopteris* no es muy escasa a nivel global, sin embargo, sí lo es para las especies sudamericanas. Los trabajos que hacen referencia a ellas son revisiones florísticas, trabajos taxonómicos, monografías, filogenias moleculares, estudios de morfogénesis e incluso trabajos citológicos y quimiotaxonómicos, por lo que la información está muy dispersa. En todos los casos las

esporas son descritas y/o ilustradas con microscopio óptico o con microscopio electrónico de barrido.

Con respecto a trabajos provenientes del mayor centro de diversidad del género, en Asia, que mencionen las esporas de *Dryopteris*, podemos citar a Zhang et al. (2011) para China. Estos autores describieron esporas amarronadas, groseramente rugosas o aladas, con un tamaño muy variable entre las 8 especies analizadas dentro del género. Dong (2010), también para China, ilustró y describió con microscopio electrónico de barrido las esporas de 2 especies y utilizó algunos caracteres como el tamaño para diferenciar una de la otra. Asimismo, Zhang et al. (2013) realizaron un estudio taxonómico sobre las especies chinas, incluyendo 167 taxones, pero a las esporas las mencionaron a nivel genérico con perisporio equinado, groseramente plegado o tuberculado.

En Europa, Rich y Jermy (1998) compararon las esporas de *D. carthusiana*, *D. expansa* y *D. dilatata* dentro de las Islas Británicas afirmando que las de ésta última especie son aladas, con espinas o tubérculos más o menos densos y más oscuras de las de *D. expansa*. Por su parte, Rünk et al. (2012) compararon en un trabajo ecológico a las mismas especies en el mismo sitio, mencionando que el color de las esporas, el color y patrón de las escamas y la arquitectura foliar son claves para diferenciar principalmente a *D. expansa* de *D. dilatata*. Estas mismas características que fueron descritas por Ekrt et al. (2010) para Europa Central. Por otro lado, Ivanova (2004) para la flora búlgara midió y describió las esporas de *D. filix-mas* como oscuras, con perisporio redondeado tuberculado-ectovermiculado, con tubérculos cortos, groseros e irregulares, pliegues inflados y una superficie finamente venulada.

Roux (2011, 2012) analizó en sendos trabajos taxonómicos, las esporas de 13 especies de *Dryopteris* en Madagascar y las islas vecinas del Océano Índico y 26 especies de África sub-Sahariana, respectivamente, incluida *D. wallichiana*. Indicando e ilustrando con microscopio electrónico de barrido que las esporas son marrones y el perisporio es plegado formando tubérculos bajos, con crestas reticuladas angostas o anchas que son densamente equinuladas, finamente rugulosas, escabrosas o ruminadas de 20-70 μm de longitud.

Para América Central, Pérez-García et al. (1999) describieron las esporas de 6 especies de *Dryopteris* de México entre las cuales se encontraba *D. wallichiana*, mencionando que son de color pardo oscuro, de contorno tuberculado y rugosas, además, el tamaño fue un factor variable en todas las especies. Asimismo, Pérez-García et al. (2001) realizaron un estudio semejante con otras 6 especies, pero en este caso, la especie

mencionada fue *D. patula* cuyas características palinológicas fueron un color pardo oscuro, una superficie rugosa de contorno tuberculado y pliegues prominentes largos o cortos, aunque otras especies fueron descritas como crestadas o equinadas.

En lo que respecta a estudios sudamericanos, Prado et al. (2014) ilustraron con microscopio electrónico de barrido las esporas de 3 especies de *Dryopteris* para Brasil, incluyendo a *D. patula* y *D. wallichiana* mencionando un perisporio rugado con pliegues amplios.

Para Bolivia, Kessler et al. (2018) en su trabajo taxonómico, mencionan que allí habitan 4 especies de *Dryopteris*, entre las cuales se encuentran *D. patula* y *D. wallichiana*, describiendo a las esporas del género como rugosas o aladas. Las mismas especies son citadas por de la Sota (1977) mencionando que el perisporio del género tiende a tuberculado o espinoso. Continuando con estudios en el noroeste argentino (NOA), Narváez et al. (2008) ilustran con microscopio electrónico de barrido y detallan que las esporas de *D. wallichiana* en la provincia de Salta, Argentina, son castaño oscuro, ruguladas, con muros anchos y redondeados, usualmente anastomosados formando areolas con muros cortos y redondeados. Mientras que Ponce y Martínez (2012) también mencionan las esporas de esta especie para Salta, pero solo las describen como plegadas.

Para Argentina, de la Sota et al. (1998) describe a las esporas de *D. filix-mas* con perisporio que puede variar de plegado a tuberculado, crestado o hasta espinuloso. En este estudio se las detalló e ilustró como pardo verdosas, sin embargo, no se hace referencia a las esporas de *D. dilatata*.

Por otro lado, las esporas de diversas especies de *Ctenitis* fueron descriptas e ilustradas en trabajos florísticos o sistemáticos, en base a observaciones con microscopio óptico o microscopio electrónico de barrido. La gran mayoría de esta información se encuentra dispersa y es escasa, principalmente en Sudamérica.

Holtum (1983, 1985) en sus estudios taxonómicos del género en las Islas Macaronesias y Asia, Malasia y el Oeste del Pacífico, respectivamente, ilustró las esporas de 16 especies de *Ctenitis* con microscopio electrónico de barrido, 6 en el primer trabajo y 10 en el segundo. En estos estudios, el autor mostró que los patrones de ornamentación son de 2 tipos: rugados y equinados, haciendo hincapié en que el perisporio del género es complejo en estructura y muy variado, lo que complica su descripción. Por su parte, Zhang et al. (2013), mencionan las esporas de 10 especies del género *Ctenitis* para China, haciendo alusión a que poseen el perisporio plegado, tuberculado o equinado.

Mientras que entre los trabajos sudamericanos, podemos citar a Viveros y Salino (2015) que describieron nuevas especies y realizaron nuevas combinaciones para *Ctenitis*, donde las esporas de 5 especies del género, incluidas *C. bigarellae*, *C. falciculata*, *C. glandulosa* y *C. paranaensis* fueron descritas e ilustradas con microscopio electrónico de barrido. Viveros et al. (2018) en la monografía taxonómica del género *Ctenitis* para América del Sur, describe e ilustra con microscopio electrónico de barrido las esporas de 21 especies del género afirmando que son de 2 tipos, equinadas y groseramente plegadas y tuberculadas.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general:

-Dar a conocer la morfología y ultraestructura de las esporas de los géneros *Ctenitis* y *Dryopteris* del Cono Sur de América como aporte al conocimiento palinológico y a estudios reproductivos, sistemáticos y filogenéticos de los helechos neotropicales.

1.3.2. Objetivos específicos:

-Estudiar con microscopios óptico, electrónico de barrido y de transmisión las esporas de los géneros *Dryopteris* y *Ctenitis* que crecen en el Cono Sur de América.

-Analizar la morfología de las esporas, la escultura y la ultraestructura de las paredes.

-Aportar caracteres palinológicos que contribuyan a estudios sistemáticos y filogenéticos de los géneros *Dryopteris* y *Ctenitis* y de la familia Dryopteridaceae.

-Establecer si existen variaciones morfológicas en las esporas de un mismo taxón en relación a su distribución geográfica.

-Detectar posibles casos de hibridación o apogamia a través del análisis palinológico.

-Contribuir a estudios paleobotánicos con información palinológica que pueda resultar útil para realizar asignaciones botánicas.

-Contribuir con la información palinológica a los estudios de propagación y estrategias reproductivas relacionadas con la conservación de las especies.

1.4. HIPÓTESIS

-La morfología de las esporas tienen correspondencia con la morfología del esporofito, evidenciando grupos naturales de especies.

-Existen variaciones en la escultura de las esporas entre las diferentes especies de *Ctenitis* y *Dryopteris*.

-La estratificación y la ultraestructura de la pared difiere entre los géneros *Ctenitis* y *Dryopteris* y es similar entre los taxa de un mismo género.

-Las características de las esporas evidencian alteraciones en el ciclo reproductivo del género *Dryopteris*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDIO

El primero en considerar a la región más austral del continente americano como única, fue de la Sota (1973), denominándola “Cono Sur”. El área del Cono Sur, tal como se aplica en dicho estudio, comprende la totalidad de Argentina, Chile, Uruguay, Brasil austral y parte de Paraguay y Bolivia.

Sin embargo, de acuerdo a Zuloaga et al. (2019), el área actual que comprende el Cono Sur de América Meridional, abarca en su totalidad los territorios de Argentina (incluida las Islas Malvinas), Chile, Uruguay, Paraguay y los 3 estados del sur de Brasil (Paraná, Rio Grande do Sul y Santa Catarina).

Este territorio posee características climáticas marcadamente oceánicas, se encuentra atravesado por la diagonal árida que abarca desde el norte de Chile hasta el sureste de Argentina, mientras que la Cordillera de los Andes divide al continente en dos áreas bien diferentes: una occidental y otra oriental (Morrone, 2001). La diagonal árida y la Cordillera de los Andes son las barreras climáticas geomorfológicas más evidentes del Cono Sur. Entre el norte del Cono Sur y las áreas adyacentes tropicales de Bolivia y Brasil no existen barreras considerables (Ponce et al., 2002).

Para enmarcar el área de estudio de cada una de las especies de esta tesis, se siguieron los esquemas propuestos por Cabrera y Willink (1973) y Morrone (2001, 2002). Estos esquemas se basan en una clasificación jerárquica, es decir, una clasificación divisiva, no aglomerativa, de las regiones en dominios, provincias y distritos.

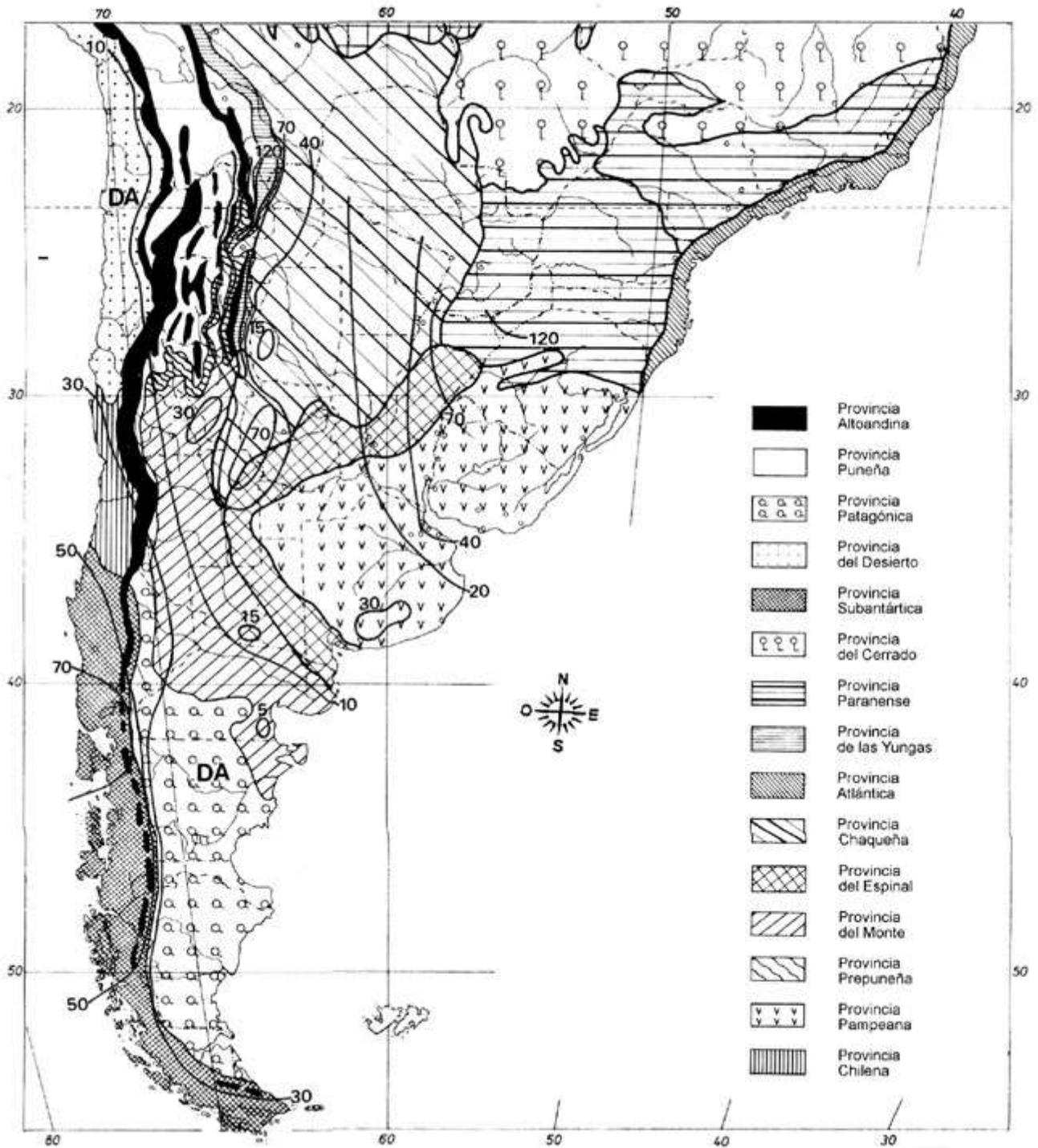


Figura 1: Provincias fitogeográficas del sur de América del Sur (Extraído de Cabrera y Willink, 1973).

Las especies aquí estudiadas, dentro del Cono Sur, se distribuyen en 7 provincias biogeográficas que están enmarcadas dentro de 4 dominios en 2 regiones.

En la Región Neotropical, son 3 los dominios dentro de los cuales las especies aquí estudiadas habitan. El Dominio Amazónico está representado por la Provincia de las Yungas, en la que habitan *Ctenitis ampla*, *C. submarginalis*, *Dryopteris patula* y *D.*

wallichiana. El Dominio Paranaense representado por 2 provincias es en el que más especies se encuentran. En la Provincia de los Bosques Atlánticos o Mata Atlántica habitan casi todas las especies del género *Ctenitis* aquí analizadas: *C. abyssi*, *C. anniesii*, *C. aspidioides*, *C. bigarellae*, *C. deflexa*, *C. distans*, *C. eriocaulis*, *C. falciculata*, *C. fenestralis*, *C. flexuosa*, *C. glandulosa*, *C. laetevirens*, *C. nervata*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis*. Mientras que en la Provincia Paranaense se distribuyen *C. bigarellae*, *C. eriocaulis*, *C. glandulosa*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis*. Por último, en el Dominio Chaqueño, en el que están incluidas las Provincias del Chaco y la Pampa, habita *C. submarginalis*.

Por otro lado, dentro de la Región Antártica se encuentra el Dominio Subantártico. En la Provincia Subantártica habita *D. filix-mas*, mientras que en la Provincia Insular habita *D. dilatata*.

Cabe destacar que varias provincias biogeográficas, principalmente las del Dominio Chaqueño, están dominadas por ambientes xéricos con su respectiva vegetación predominante, sin embargo, los ríos que surcan estos ambientes, llevan consigo bosques en galería, donde habitan especies de esta tesis.

2.2. OBTENCIÓN DEL MATERIAL

En esta tesis se utilizaron esporas obtenidas de material de herbario. Se visitaron los siguientes herbarios nacionales: LP, SI, BA y se realizaron pedidos de préstamo a los siguientes herbarios nacionales e internacionales: CTES, BCRU, BHCB y RB (Thiers, 2020).

Asimismo fueron consultadas las siguientes bases de datos de instituciones internacionales: BR, C, CEPEC, COL, FCQ, GH, HASU, HB, HBR, HUA, HUEFS, ICN, INPA, LPB, MBM, MO, MVFA, NY, OUPR, PACA, QCA, QCNE, SJRP, SP, SPF, UEC, UPCB, US, USM.

Para la correcta determinación taxonómica de los ejemplares de herbario se utilizaron los siguientes trabajos florísticos, principalmente americanos: Christensen (1913, 1920), de la Sota (1977), de la Sota et al. (1998), Broughton y McAadam (2003), Salino y Morais (2003), Schwartsburd y Labiak (2007), Schwartsburd et al. (2007), García y Salino (2008), Bittencourt de Matos (2009), Prado y Hirai (2010), Ponce y Martínez (2012), Rünk et al. (2012), Prado et al. (2014), Viveros y Salino (2015), Kessler et al. (2018) y Viveros et al. (2018).

2.3. DESCRIPCIÓN VEGETATIVA DE LAS ESPECIES

Las descripciones vegetativas de los esporofitos para cada especie se basó en los caracteres diagnósticos, o más relevantes, propuestos por Ponce y Arana (2016) para *Dryopteris* y por Viveros et al. (2018) para *Ctenitis*.

2.4. CONFECCIÓN DE LOS MAPAS DE DISTRIBUCIÓN

Los mapas de distribución están basados en puntos que hacen referencia a la ubicación puntual de un ejemplar en una localidad. Los mapas de distribución de las especies de *Dryopteris*, fueron confeccionados a partir de la extrapolación de las localidades que se hacen referencia en el material de herbario consultado. Mientras que para las especies de *Ctenitis* se extrajeron y modificaron a partir de lo observado por Viveros et al. (2018). La única excepción en este último género la constituye *C. ampla*, ya que su mapa ha sido confeccionado de la misma manera que las especies de *Dryopteris*.

2.5. EJEMPLARES UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO PALINOLÓGICO

C. ampla:

-Argentina, Salta, San Martín, Tartagal, Quebrada Naranjito, 15/07/1944, Schulz 5228, (LP).

C. anniesii:

-Brasil, Rio de Janeiro, Itatiaia - Parque Nacional de Itatiaia. Maromba, 21/03/1942, Barros 707, (RB).

-Brasil, Rio de Janeiro, Itatiaia - Nova Picada Maromba, 21/03/1942, Brade 237, (RB).

-Brasil, Est. Paraná, Loc. Tunas do Paraná, Colonia Joao XXIII, 2002, Ribas y Abe 4718, (SI).

-Brasil, Est. Paraná, Villa Nova, 1905, Rosenstock 89, (SI).

C. aspidioides:

-Brasil, Rio de Janeiro, Santa Maria Madalena - Serra da Grama, 24/11/1977, Mautone 450, (RB).

C. bigarellae:

-Brasil, Minas Gerais, Catas Altas, RPPN Santuário do Caraça, Caminho para o Pico da Conceição, 26/08/2008, Viveros, Salino, Oliveira y Giacomim 22, (BHCB).

-Brasil, Minas Gerais, Parque Natural do Caraça Gruta do Padre Caio, Catas Altas, 2000, Salino 5958, (BHCB).

C. deflexa:

-Brasil, Rio de Janeiro, Nova Friburgo – California, 19/11/1922, Kuhlmann 110, (RB).

C. distans:

-Brasil, São Paulo, Iporanga - Apiaí. Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR). Núcleo Caboclos, 22/08/2012, Mazziero y Engels 1168, (RB).

C. eriocaulis:

-Brasil, Minas Gerais, Marliéria, Parque Estadual do Rio Doce, estrada da Ponte Queimada, em frente á Campolina, 29/05/2001, Stehmann, Sposito, Mota y Barros 2972, (BHCB).

-Brasil, Alagoas, São José da Laje, Usina Serra Grande, Mata Maria Maior, Grotta do Gereba2001, Pietrobom 5333, (BHCB).

C. falciculata:

-Brasil, Espírito Santo, Jatiboca, 13/05/1946, Brade, Pereira y Duarte 18187, (RB).

-Brasil, Santa Catarina, Armação do Sul, 15/12/1947, Senhem 3156, (RB).

-Brasil, Santa Catarina, Araranguá, Meleira, 1/2/1944, Reitz 1091, (RB).

-Brasil, Paraná, Villa Nova, Rio Negro, 1905, Rosenstock 79, (SI).

C. fenestralis:

- Brasil, Santa Catarina, Caçador, Pinheiral, 3-15 km W de Caçador, 1957, Smith y Klein 10894, (SI).

-Brasil, São Paulo, Ubatuba, Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo de Picinguaba, Trilha do Pico do Cuscuzeiro, próximo ao marco da divisa entre Rio de Janeiro e São Paulo, 2001, Salino, Dittrich, Morais y Meinberg 7285, (BHCB).

-Brasil, São Paulo, **Ubatuba**, Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Trilha da Cachoeira dos Macacos, 2001, Salino, Dittrich, Morais, Carvalho, Teixeira y Oliveira 7735, (BHCB).

C. laetevirens

-Brasil, Santa Catarina, Garuva, erva terrícola; interior do fragmento em local inclinado, 2009, Dreveck y Carneiro 1075, (BHCB).

-Brasil, Santa Catarina, 2010, próximo a Serra da Santa antes do Morro do Funil, Pouso Redondo, Salino 14724, (BHCB).

C. nervata:

-Brasil, Paraná, Morretes, Estação Marumbi, 02/01/1986, Kummrow y Cordeiro 2701, (CTES).

-Brasil, Santa Catarina, Biguaçu – Fechinal, 18/01/1945, Reitz C1004, (RB).

-Brasil, Santa Catarina, Joinville, Entrada Dona Francisca, 1906, Rosenstock 118a, (SI).

C. paranaensis:

-Brasil, Santa Catarina, Meleiro – Graranguá, 13/10/1943, Reitz 11, (RB).

C. submarginalis:

- Argentina, Tucumán, Tafí del Valle, 09/1919, Venturi 113, (BA).
- Argentina, Tucumán, Villa Nogués, 09/1911, Lillo 12007, (BA).
- Argentina, Misiones, Santa Ana, 17/11/1913, Rodríguez 124 (BA).
- Argentina, Misiones, camino de Puerto Piray a San Pedro KM 27, Arroyo Isla, 12/10/1977, Legname, Vaca y López 5723, (BA).
- Argentina, Misiones, Guaraní, Predio Guaraní: 26°54'59' S- 54°12'18' O tramo II, 25/11/1993, Tressens, Cristobal, Khel et al. 4741, (LP).
- Argentina, Misiones, San Martín, Ruiz de Montoya, Arroyo Tucanguá, 10/11/1976, Quarín 3476, (LP).
- Argentina, Misiones, Leandro Alem, 10 km de Cerro Azul, camino a Apóstoles, por Colonia Taranco, 10/03/1969, Krapovickas, Cristobal, Maruñak et al. 15096, (LP).
- Argentina, Corrientes, Santo Tomé, Estancia Garruchos, 07/02/1972, Kaprovickas, Critobal, Maruñak et al. 21319, (LP).
- Argentina, Buenos Aires, Ensenada, Reserva Natural Punta Lara, 2006, Ramos Giacosa 24, (LP).
- Paraguay, Canindeyú, Jeju-mi, sendero Jaku apeti, 14/10/1997, Peña-Chocarro 361, (CTES).
- Paraguay, Cordillera, Valenzuela, 17/12/1950, Sparre y Vervoorst 1051, (LP).
- Paraguay, Amambay, 23 km W de Pedro Juan Caballero (Chirigüelo), 22/02/1968, Krapovickas, Cristobal, Ahumada 14138, (LP).
- Brasil, Rio Grande do Sul, Canguçu, 20/06/1968, Ceroni 4948, (CTES).
- Brasil, Paraná, Municipio de Toledo, 15/11/1963, Pereira y Hatschbach 30248, (LP).
- Brasil, Paraná, Municipio de Curitiba, Capanema, 13/11/1973, Kummrow 98, (LP).

D. dilatata:

- Rumania, Bacau, Slanic Moldova, 1970, Mititeltu, Barabas y Barabas 227, (BAB).
- Estados Unidos, Vermont, Monte Mansfield, 31/08/1960, Evans, (LP).
- Estados Unidos, Washington, Norte de Seattle, King Co., 21/08/1935, Eyerdam, (LP).

D. filix-mas:

- Argentina, Neuquén, Península Quetrihué, Arroyo desde Laguna Hua-Huán, 09/02/2005, Puntieri, Grosfeld y Passo 547, (BCRU).
- Argentina, Neuquén, Los Lagos, Villa Puerto Manzano, 04/05/1973, Diem 3596 (LP).

D. patula:

- Argentina, Tucumán, Monteros, Los Morteritos, 20/07/1920, Schreiter 1188, (BA).
- Argentina, Salta, Santa Victoria, quebrada camino de Baritú a Lipeo, 14/07/1999, Ganem et al. 153, (CTES).
- Argentina, Salta, Santa Victoria, Los Toldos, 16/03/1986, Palací 477, (LP).
- Argentina, Salta, Orán, Camino del puente del Río Bermejo al Río Pescado pasando Yaculika, +/- 7km, 27/05/1971, Legname y Cuezco 8299, (LP).
- Argentina, Tucumán, Chicligasta, Puesto Santa Rosa, 28/2/1950, Meyer 15427, (LP).
- Argentina, Tucumán, Monteros, Quebrada Pueblo Viejo, 01/19665, de la Sota 4067 (LP).

D. wallichiana:

- Argentina, Salta, Quebrada de San Lorenzo, 03/1907, Hannan, (BA).
- Argentina, Catamarca, Andalgalá, Laguna Grande, 02/05/1915, Jorgensen 1493 (BA).
- Argentina, Catamarca, Andalgalá, Esquina Grande, 07/1920, Schreiter 1180 (BA).
- Argentina, Tucumán, La Lagunita, 10/04/1912, Rodríguez 481, (BA).
- Argentina, Tucumán, Tafí, La Casita, 12/1911, Castellón, (CTES).
- Argentina, Jujuy, Capital, El Cucho, Cerro Labrado, Potrero de Las Mulas, 11/03/1966, de la Sota 4372, (LP).
- Argentina, Jujuy, Capital, Yala- Las Escaleras, 03/1970, Fabris y Zuloaga 7850, (LP).
- Argentina, Salta, Guachipas, Estancia Pampa Grande, cordillera occidental camino a Cerro Cristal, 25°50' S- 65°33' O, 20/03/1966, Hawkes, Hjerting y Rahn 3979, (LP).
- Argentina, Jujuy, Ledesma, Camino a Valle Grande, Abra de Cañas, 13/05/1972, Cabrera y Fabris 22618, (LP).
- Argentina, Jujuy, Ledesma, Parque Nacional Calilegua, 19/05/2016, Luna, Arana y Ganem 1905, (LP).
- Argentina, Jujuy, Ledesma, llegando a Abra de Cañas, 09/04/1971, Legname y Cuezco 7951, (LP).
- Argentina, Jujuy, Capital, Tiraxi, 2016, Luna, Arana y Ganem 1905b, (LP).
- Argentina, Salta, Santa Victoria, Los Toldos, Quebrada del Astillero, 17/03/1986, Palací 497, (LP).
- Argentina, Salta, Santa Victoria, Los Toldos, entre Nogalar y El Mesón, 19/02/1960, Meyer, Cuezco y Legname 20508, (LP).

2.6. MATERIAL ADICIONAL ESTUDIADO

C. anniesii

- Brasil, Santa Catarina, Blumenau, 31/10/2009, Beckhauser 170, (RB).
- Brasil, Rio de Janeiro, Itatiaia - Parque Nacional de Itatiaia. Maromba, 21/3/1942, Barros 707, (RB).
- Brasil, Santa Catarina, Florianópolis, Ilha de Santa Catarina, Sertão da Lagoa, 27/6/1948, Rohr 1053, (RB).

C. submarginalis

- Argentina, Corrientes, Santo Tomé, Garabí Forestal, camino a Colonia Garabí, 11 km E ruta 14, 4/4/1995 Tressens y Barret 5239, (LP).
- Argentina, Misiones, Guaraní, Predio Guaraní: 26°54'59' S- 54°12'18' O tramo II, 25/11/1993, Tressens, Cristobal, Khel et al. 4741, (LP).
- Argentina, Misiones, Iguazú, Parque Nacional Iguazú, Sendero Macuco, 1/12/1993, Vanni, Ortiz y Schinini 3097, (LP).
- Argentina, Misiones, San Pedro, Ruta Prov.17, desvío 5 km a Tobuna por Ruta Prov. 224, 26/1/1973, Schinini y Fernandez 6094, (LP).
- Brasil, Paraná, Foz do Iguaçu, P. N. Iguaçu, Río Iguaçu, -25°37'36 -54°28'54', 2006, Labiak, Matos, Boeger, Muschner 3802, (SI).
- Brasil, Rio Grande do Sul, Rolante, Casacata do Chuvisquero, 1988, Diesel 70004, (SI).
- Paraguay, San Pedro, Primavera, 1957, Woolston 842, (SI).

D. dilatata

- Alemania, Baviera, cerca de Wolfach, 08/1958, Evans "a", (LP).
- Estados Unidos, Michigan, Alpena, 28/9/1963, de la Sota s/n, (LP).
- Suecia, Vastergotland, Molnlycke, 10/1890, Uhlemann s/n, (LP).

D. filix-mas

- Argentina, Neuquén, Los Lagos, Villa Puerto Manzano, 1973, Diem 3596, (BAB).
- Argentina, Neuquén, Los Lagos, Villa Puerto Manzano, 1975, Diem 3603, (BAB).

D. wallichiana

- Argentina, Jujuy, Capital, lagunas de Yala, 10/3/1960, Meyer, Cuezco y Legname 21010, (LP).
- Argentina, Jujuy, Capital, Mina 9 de Octubre, Sierra de Zapla, Cerro Zapla, 13/4/1974, Cabrera y Kiesling 24973, (LP).
- Argentina, Jujuy, Capital, Tiraxi, 2016, Luna, Arana y Ganem 1905a, (LP).
- Argentina, Jujuy, Ledesma, Abra de Las Cañas, 17/3/1966, de la Sota 4443, (LP).

- Argentina, Salta, Capital, Quebrada de San Lorenzo, 23/6/1985, Palací 62, (LP).
- Argentina, Salta, Parque Nacional El Rey, 18/7/1979, Brown 1028, (LP).
- Argentina, Tucumán, Burruyacú, La Masada, 21/1/1947, Borsini s/n, (LP).
- Argentina, Tucumán, Chicligasta, Cerro de Puesto del Saladillo, 26/3/1953, Schulz 8462, (LP).

2.7. MATERIAL NO VISTO

Las esporas de 4 especies que habitan el Cono Sur no fueron observadas en este estudio por distintos motivos que a continuación se detallan.

C. abyssi es una especie conocida solamente por su material tipo, razón por la cual no se pudo acceder a dicho material para el estudio palinológico. Sin embargo, Viveros et al. (2018) que realizaron la monografía taxonómica del género *Ctenitis* en Sudamérica, aunque sí pudieron acceder al material, no pudieron observar ninguna espora.

Otro es el caso de *C. flexuosa*, una especie que es conocida por 2 ejemplares con más de 100 años cada uno, uno de Rio de Janeiro y otro de Santa Catarina y en ambos casos, el material de herbario está incompleto y caracteres como el rizoma y las esporas se desconocen (Viveros et al., 2018).

Las esporas de *C. glandulosa* no fueron vistas aquí debido a que no se tuvo acceso a los ejemplares de herbario. Sin embargo, las esporas fueron observadas e ilustradas con MEB por Viveros y Salino (2015) y Viveros et al. (2018) apreciándose que son rugadas y que presentan pliegues groseros.

Por último, los ejemplares observados aquí de *C. laetevirens* mostraron esporangios abortados y no fue posible observar ninguna espora en ellos.

2.8. METODOLOGÍAS

2.8.1. Microscopía óptica (MO)

Entre los especímenes consultados en las colecciones de herbario, se seleccionaron aquellos fértiles con esporangios maduros. Se extrajeron esporas de la porción media de las pinnas, barriéndose con un pequeño pincel. Para la elaboración de preparados ópticos de esporas sin tratamiento previo, se utilizó gelatina-glicerina como medio de montaje y el cubreobjetos se selló con parafina.

Los preparados ópticos que resultaron de este trabajo se encuentran depositados en la palinoteca del LACPE, FCNyM (Laboratorio de Anatomía Comparada, Propagación y

Conservación de Embriofitas, “Dr. Elias R. de la Sota”), identificados con el nombre y número de colector del ejemplar.

Las características de la ornamentación son fácilmente evidenciables sin la necesidad de un tratamiento químico previo. Sin embargo, posterior al análisis con MO, se seleccionaron algunos ejemplares para realizar acetólisis (Erdtman, 1960), con el objetivo de analizar aspectos de la pared y comparar las observaciones entre el material acetolizado y el no acetolizado. A continuación los ejemplares acetolizados para el estudio:

-*D. filix-mas*: Diem 3596, Arg. /Neuquén, 1973.

-*D. wallichiana*: Hannan, Arg. /Salta, 1927.

-*D. wallichiana*: Luna, Arana y Ganem 1905b, Arg. /Jujuy, 2016

-*D. wallichiana*: Schreiter 1180, Arg. /Catamarca, 1920.

-*D. patula*: Schreiter 1188, Arg. /Tucumán, 1920.

-*D. patula*: Legname y Cuezco 8299, Arg. /Salta, 1971.

Las observaciones se realizaron con los microscopios ópticos Nikon E200 y Olympus BH2 del LACPE-FCNyM, UNLP.

2.8.2. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Las esporas seleccionadas para los estudios de MEB fueron montadas en cinta bifaz sin tratamiento previo. Antes de la observación, las muestras fueron cubiertas con oro en campana, bajo vacío. Las observaciones se realizaron con el microscopio Jeol JSMT-100 del Servicio de Microscopía de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP.

2.8.3. Microscopía electrónica de Transmisión (MET)

Las especies seleccionadas para el estudio con MET fueron elegidas en base a un análisis previo considerando que el material disponible fuera adecuado y suficiente para este estudio.

Las esporas seleccionadas para los estudios con MET fueron procesadas según los protocolos que se detallan a continuación. Los agentes fijadores utilizados fueron el glutaraldehído (GA) para la fijación y el tetraóxido de osmio (O₄Os) para la posfijación. El GA reacciona con las proteínas y preserva la continuidad de las membranas y el O₄Os reaccionan con los lípidos. En ambos pasos de la fijación, el agente fijador fue mezclado con Alcian Blue (AB). Compuestos que mejoran la visualización de los elementos

constitutivos de la pared y facilitan la combinación con sustancias contrastantes utilizadas como el acetato de Uranilo (Rowley y Nilsson, 1972; Rowley, 1973).

Protocolo para el procesamiento de esporas provenientes de material de herbario (Rowley y Nilsson, 1972):

-Hidratación: las esporas fueron sumergidas en una solución de 1% de AB en buffer de fosfato durante 24 horas (PH 7.4 a temperatura ambiente).

-Fijación: se realizó con 2% de GA + 1% de AB en buffer de fosfato durante 12 horas (PH 7.4 a temperatura ambiente).

-Lavado: el material se lavó con buffer de fosfato + AB.

-Deshidratación: las esporas fueron deshidratadas con una serie creciente de acetona de 30%, 50%, 80% y 100%.

-Infiltración: el material se infiltró en resina Spurr de dureza media.

-Cortes: con ultramicrotomo se realizaron cortes semifinos de 3 μm de espesor aptos para la observación con MO. Con el fin de seleccionar las esporas más adecuadas para la visualización al MET.

Una vez finalizada la selección se realizaron cortes ultrafinos. Estos cortes se montaron sobre grillas de cobre apropiadas para la observación con MET.

-Tinción: los cortes semifinos fueron teñidos con azul de toluidina a PH 4.5. Los cortes ultrafinos, montados sobre las grillas, se trataron con 1% de acetato de uranilo durante 15 minutos y citrato de plomo durante 3 minutos.

-Observación: las muestras fueron observadas con el microscopio electrónico de transmisión de M 109-Turbo Zeiss perteneciente al servicio de Microscopía electrónica de Transmisión del Laboratorio Nacional de Investigación y Servicios (LANAIS/ CONICET) de la Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires (UBA).

Ilustraciones: para las fotografías capturadas al microscopio óptico se utilizó una Micrometrics 391CU 3.2M CCD Camera.

La edición de las fotografías se realizó con Photoshop CS5 Extended y las láminas ilustrativas se elaboraron utilizando CorelDraw X3.

2.9. CARACTERES UTILIZADOS EN LAS DESCRIPCIONES DE LAS ESPORAS

2.9.1. Caracteres cuantitativos

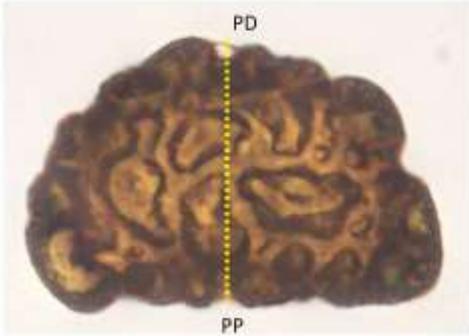
En el análisis de las esporas se tuvieron en cuenta la longitud de los ejes, las dimensiones de los elementos esculturales de la esporodermis (elementos de la ornamentación) y el espesor de las paredes.

Para el caso de la longitud de los ejes y los elementos esculturales de la esporodermis, las dimensiones fueron estimadas en base a medidas de 20 esporas por ejemplar analizado. En el caso de los diámetros se incluyó la ornamentación de la pared. En las descripciones se expresan los valores mínimo, máximo y promedio en micrómetros (μm).

Longitud de los ejes

- Diámetro polar (DP),
- Diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR),
- Diámetro ecuatorial menor (DEMENOR),
- Longitud de la lesura (L).

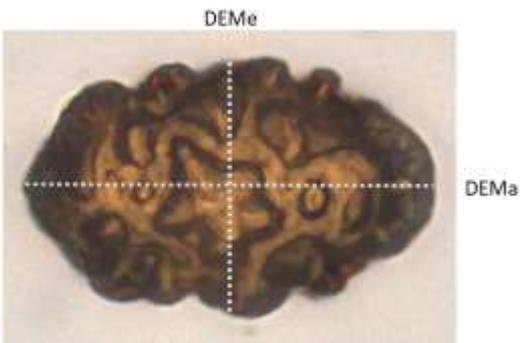
Las medidas de las longitudes de los ejes fueron tomadas durante las observaciones al MO mediante una reglilla ocular de medición y corroboradas con medidas de microscopía electrónica a través de ImageJ.



DIÁMETRO POLAR

PD: polo distal

PP: polo proximal



DIÁMETROS ECUATORIALES

DEMe: Diámetro ecuatorial menor

DEMa: Diámetro ecuatorial mayor



LONGITUD DE LA LESURA

Figura 2: ejemplificación de las longitudes de los ejes.

Elementos esculturales de la esporodermis:

- Altura,
- Ancho,
- Largo.

Espesor de las paredes:

Se tomaron medidas del espesor del perisporio y del exosporio así como de los estratos que los constituyen.

Las medidas de los elementos esculturales de la esporodermis y del espesor de las paredes fueron tomadas mediante la utilización del programa ImageJ en base a fotografías obtenidas en los microscopios electrónicos de barrido y de transmisión.

2.9.2. Caracteres cualitativos

- Abertura,
- Simetría,
- Color,
- Forma,
- Superficie,
- Estructura,
- Ultraestructura.

Nota: para definir la forma de la espora en vista ecuatorial y polar, se adoptaron los términos propuestos por Morbelli (1980).

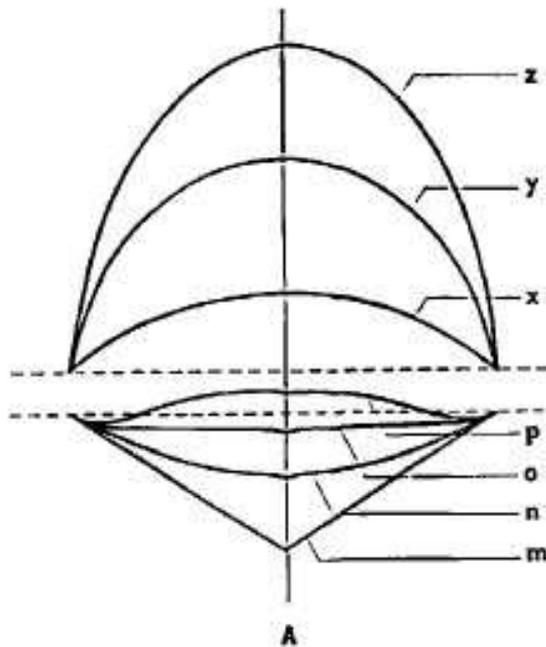


Figura 3: Representación de una espora en vista ecuatorial. Se describe la forma de la cara proximal (m-p) y distal (x-z) (la línea punteada representa el ecuador de la espora); cara proximal: m = cónica, n = convexa, o = plana, p = cóncava; cara distal: x = convexa, y = hemisférica, z = subcónica. Extraído y modificado de Nayar y Devi (1966).

2.10. TERMINOLOGÍA EMPLEADA EN LAS DESCRIPCIONES DE LAS ESPORAS:

Los siguientes términos palinológicos fueron utilizados en la descripción de las esporas. Se cita para cada caso la bibliografía correspondiente.

Abertura: estructura especial del exosporio ubicada en la cara proximal, a través de la cual emerge el gametofito (Tryon y Lugardon, 1991).

Ala: elemento delgado, expandido de la superficie del perisporio; es formada por una compresión y extensión tangencial de los pliegues del perisporio (Tryon y Lugardon, 1991).

Canal: tubo delgado que atraviesa parcial o totalmente el exosporio (Tryon y Lugardon, 1991).

Capa: parte química o estructuralmente distinta del exosporio o perisporio (Tryon y Lugardon, 1991).

Escabrado: elemento positivo de la ornamentación de forma irregular inferior a 1 μm en cualquier dirección; semejante al gránulo. (Lellinger, 2002; Punt et al., 2007).

Escamas (del perisporio): elementos lineares, usualmente cortos, finos, de la parte interna del perisporio (Tryon y Lugardon, 1991).

Escultura: relieve de la superficie, elementos de la ornamentación en la superficie de la espora. (Punt et al., 2007; Halbritter et al., 2009)

Esférula: partículas esferoidales o globosas de material perispórico, libre o ligado al perisporio (Tryon y Lugardon, 1991).

Espina/equina: elemento positivo, radialmente alargado, mayor a 1 μm de base ancha y lados paralelos o no en la porción media, confluentes en un extremo agudo. (Lellinger, 2002; Punt et al., 2007; Ybert et al., 2012).

Espínula/equínula: elemento similar a una espina, menor a 1 μm . (Lellinger 2002, Punt et al., 2007)

Esporodermo: la envoltura entera de la espora que consiste de varias paredes distintas (Tryon y Lugardon, 1991).

Estrato: subdivisión de una capa (Tryon y Lugardon, 1991).

Estructura: construcción interna de la pared de la espora (Punt et al., 2007).

Exosporio: pared de la esporodermis, constituida de esporopolenina, que envuelve a la espora por fuera del endosporio y es interna respecto del perisporio. Formada a partir del tapete con desarrollo centrífugo. (Morbelli, 1980; Tryon y Lugardon, 1991; Lellinger, 2002).

Exosporio Blechnoide: el tipo de exosporio caracterizado por una capa interna muy delgada y una externa que forma la mayor porción de la pared, incluye cavidades diminutas en la parte más interna. Es el tipo de exosporio más común en esporas de las Filicópsidas derivadas (Tryon y Lugardon, 1991).

Foveolado: superficie con pequeñas depresiones generalmente ampliamente separadas unas de otras (Tryon y Lugardon, 1991).

Globoso: un tipo de forma semejante a la esférica (Tryon y Lugardon, 1991).

Gránulo: elemento de la estructura o escultura de diferente tamaño y forma, inferior a 1 micrón (Punt et al., 2007).

Lesura: abertura de dehiscencia situada en el polo proximal. (Tryon y Lugardon, 1991; Punt et al., 2007).

Monolete: espora de simetría bilateral, con una lesura simple (Tryon y Lugardon, 1991).

Pared: cada uno de los revestimientos que forma el esporodermo, tales como el exosporio, perisporio y endosporio (Tryon y Lugardon, 1991).

Perisporio: pared de la esporodermis, de esporopolenina, que envuelve la espora por fuera del exosporio, originada a partir del tapete, luego de la formación del exosporio (Tryon y Lugaron, 1991).

Retículado: tipo de ornamentación constituida por crestas, pliegues o muros que se anastomosan y definen areolas conformando una red (Tryon y Lugardon, 1991).

Rugado: tipo ornamental formado por crestas o pliegues cortos (Tryon y Lugardon, 1991).

Rugulado: superficie con crestas o pliegues bajos y pequeños (Tryon Lugardon, 1991).

Ruminado: superficie agrietada o resquebrajada, mostrando zonas de apariencia irregular (Ayers, 1963; Koul et al., 2000; Rueda, 2015).

2.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XVI.

Las variables analizadas fueron 4 para cada género, éstas son de carácter cuantitativo continuo y son las siguientes: diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR), diámetro ecuatorial menor (DEMENOR), diámetro polar (DP) y la longitud de la lesura (L).

La prueba elegida para analizar las variables de estudio fue el análisis de la varianza (ANOVA). El objetivo de dicho test fue establecer las diferencias pertinentes entre las especies a estudiar, comparando las medias de cada variable analizada.

La metodología del análisis consistió en evaluar primero 2 supuestos: la normalidad de los residuos y la homocedasticidad de las varianzas. Estos supuestos se debieron validar a través de los test de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. La hipótesis de la que se partió en cada caso es que los residuos deben poseer una distribución normal y que las varianzas dentro de cada grupo a comparar no difieran entre sí, respectivamente. A continuación se detalla el contraste de hipótesis:

-Supuesto= normalidad de los residuos:

H₀: los residuos poseen una distribución normal.

H₁: los residuos no poseen una distribución normal.

-Supuesto= homocedasticidad de varianzas:

H₀: varianza₁=varianza₂=varianza₃=varianza_n.

H₁: al menos un par de varianzas difiere entre sí.

En ambos casos, debe aceptarse la hipótesis nula para validar los supuestos, por lo que la probabilidad debe superar al valor alfa (0.05). Cuando los supuestos no lograron validarse, se aplicó una transformación a los datos mediante el uso del logaritmo natural (Ln) para que la variable en cuestión pueda reducir la variabilidad intragrupal y,

posteriormente se volvió a probar la validación de los supuestos con la variable transformada.

Una vez validados los supuestos, se procedió a realizar el análisis de la varianza; en este caso, la hipótesis a contrastar es que las medias de todos los grupos analizados sean iguales entre sí.

-Test= análisis de la varianza:

H₀: $media_1=media_2=media_3=media_n$.

H₁: al menos un par de medias difiere entre sí.

De esta forma, cuando el valor de la probabilidad fue inferior al alfa (<0.05), se rechazó la hipótesis nula, corroborando que había diferencias estadísticamente significativas entre algunas medias, por lo que se procedió a realizar una prueba post hoc con el fin de dilucidar cuáles eran esas medias que difirieron entre sí. El test elegido para llevar a cabo esta prueba fue el test de LSD.

En el caso de que los supuestos de la normalidad de los residuos y la homocedasticidad de las varianzas no se hubieran validado, aun con la variable transformada por el logaritmo natural (Ln), se procedió a realizar un test no paramétrico para concluir el análisis. En este caso, la prueba elegida ha sido Kruskal-Wallis, donde la hipótesis a contrastar fue que las medianas de los grupos analizados no difieren entre sí.

-Test= Kruskal-Wallis:

H₀: $mediana_1=mediana_2=mediana_3=mediana_n$.

H₁: al menos un par de medianas difiere entre sí.

De esta forma, cuando el valor de la probabilidad fue inferior al alfa (<0.05), se rechazó la hipótesis nula, corroborando que había diferencias estadísticamente significativas entre algunas medianas. Posteriormente se procedió a realizar una prueba post hoc con el fin de dilucidar cuáles fueron esas medianas que diferían entre sí. El test elegido para llevar a cabo esta prueba fue el test de Bonferroni.

2.12. GLOSARIO ESTADÍSTICO

Distribución normal: distribución de probabilidad de variable continua, la gráfica de su función de densidad posee una forma acampanada y es simétrica respecto de un determinado parámetro estadístico, dependiente de la media y el desvío estándar.

Hipótesis nula (H₀): es una suposición o punto de partida que se utiliza para negar o afirmar un suceso en relación a algún parámetro de una población o muestra, es la

hipótesis a contrastar, no se suele rechazar a menos que los datos parezcan evidenciar que es falsa.

Hipótesis alternativa (H_1): es la suposición alternativa, complementaria o contraria a la hipótesis nula, representa la conclusión que el investigador desea demostrar o afirmar tras su estudio

Homocedasticidad de varianzas: la varianza de las variables son constante a lo largo de las observaciones.

Media/Promedio: es el valor característico de una serie de datos cuantitativos, se obtiene a partir de la suma de todos sus valores dividida entre el número de sumando.

Mediana: es el número central de un grupo de números ordenados por tamaño; si la cantidad de términos es par, la mediana es el promedio de los 2 números centrales.

Prueba post hoc: una vez que se ha determinado que existen diferencias entre las medias, las pruebas de rango post hoc permiten determinar qué medias difieren. La prueba de rango post hoc identifica subconjuntos homogéneos de medias que no se diferencian entre sí.

Residuos: son valores que se corresponden con las desviaciones de cada dato respecto a la media del nivel del factor al que pertenecen.

Valor alfa/nivel de significancia: es la probabilidad de rechazar la hipótesis nula cuando es verdadera, generalmente se utiliza el nivel de significancia de 0.05, que indica un riesgo de 5% de concluir que existe una diferencia cuando no la hay.

Varianza: es una medida de dispersión que representa la variabilidad de una serie de datos respecto de su media.

3. RESULTADOS

No se establecieron diferencias significativas en cuanto a los caracteres cuantitativos entre esporas acetolizadas y no acetolizadas. Sin embargo, un gran porcentaje sufrió desprendimientos del perisporio durante el proceso de acetólisis, estas muestras no se tuvieron en cuenta a la hora de efectuar el análisis.

También fue común encontrar esporas con el perisporio desprendido o pliegues rotos tanto al MO, sin tratamiento alguno, como al MEB.

3.1. GÉNERO *CTENITIS*

3.1.1. *Ctenitis ampla* (Figuras 6A-C; 7A-F)

Descripción general del esporofito: esta especie es fácilmente reconocida por tener una lámina 2-4-pinnado-pinnatífida, escamas clatradas, con base cordada, con o sin algunas fimbrias cortas en la base y lateralmente, castaño o castaño claro.

Hábitat: en selvas lluviosas o bosques estacionales semidecíduos en tierras bajas o altas, en pendientes o barrancos 0-2000 m.

Distribución: Estados Unidos (Florida), México, Honduras, Nicaragua, El Salvador, Costa Rica, Panamá, Cuba, Jamaica, Hispaniola, Trinidad, Brasil, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y en Argentina en Salta y Jujuy.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral a sub-radial. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano-convexo a convexo-sub-hemisférico. Contorno en vista polar elipsoidal a subcircular. El diámetro ecuatorial mayor es de 35 (41,9) 49 μm , el diámetro ecuatorial menor de 28 (36,1) 42 μm , el diámetro polar 28 (32,7) 38 μm . La lesura es de 8,4 (12,9) 19,3 μm de largo. La lesura es delicada y debido a la densidad de los elementos esculturales es poco observable (Figs. 6, A; 7, B). Exosporio liso de 0,94-1,2 μm . Perisporio con escultura equinada (Figs. 6, C; 7, C), formada por espinas cónicas, con base ancha y ápice atenuado (Fig. 7, E), de 3,9-8,8 μm de alto, de hasta 1,2 μm de ancho en el ápice y una base de 3,1-5,7 μm de ancho. Las bases son coalescentes unas con otras y esta unión puede darse por pequeños cordones (Fig. 7, D) o no (Fig. 7, F). A menudo, tanto con MO como con MEB, las puntas de las espinas aparecen rotas, evidenciando que son huecas en su interior (Figs. 6, B; 7, A, F).



Figura 4. Distribución de *C. ampla* en el Cono Sur de América.

3.1.2. *Ctenitis anniesii* (Figuras 6D-F; 7G-K)

Descripción general del esporofito: es una especie que puede ser reconocida por un rizoma erecto, los segmentos estrechos, separados por un seno ancho y redondeado, igual o más ancho que los mismos segmentos, las escamas son densas en la costa y cóstula abaxialmente, aunque también se las puede encontrar adaxialmente en las costas, indusio grande y conspicuo, además, las escamas del raquis y costa pueden poseer o no unas cortas fimbrias en la base y lateralmente.

Hábitat: terrestre, endémica de la selva umbrófila densa, 100-500 m.

Distribución: sur y sureste de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 30,8 (39) 45,5 μm , el diámetro ecuatorial menor de 24,5 (29,2) 38,5 μm , el diámetro polar 24 (29,2) 35 μm . La lesura es de 15,4 (22,4) 30,8 μm de largo. Exosporio liso de 0,5-0,7 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues irregularmente distribuidos (Figs. 6, D, F), subglobosos (Fig. 7, H), sinuosos (Fig. 7, G) y de dimensiones variables, de 3-14,6 μm de largo, 0,7-4,6 μm de ancho y 2,2-5,3 μm de alto. Superficie del perisporio rugulada-escabrada (Fig. 7, K), formada por pequeñas rúgulas y elementos positivos de apariencia microgranulada.

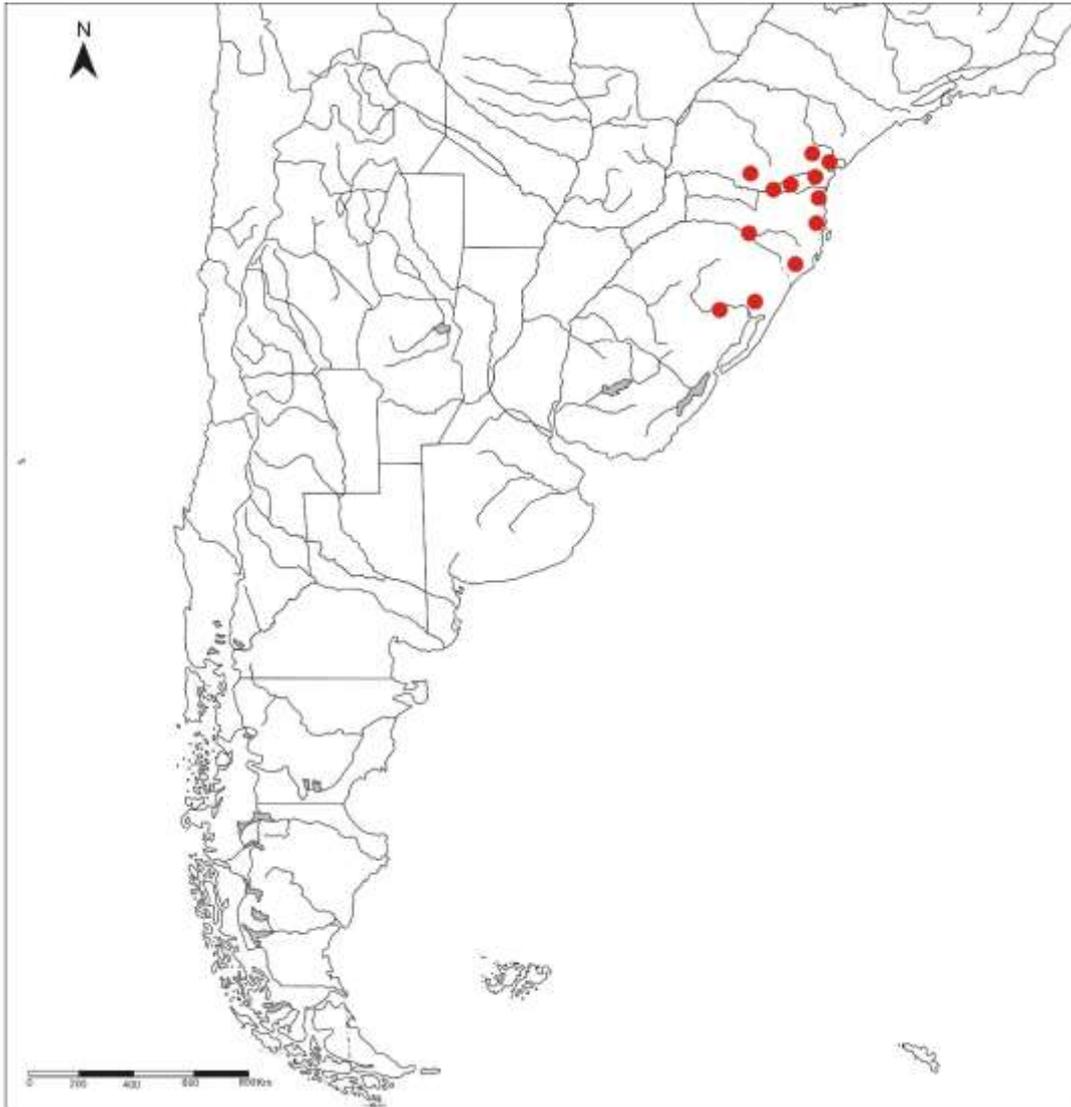


Figura 5. Distribución de *C. anniesii* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018)

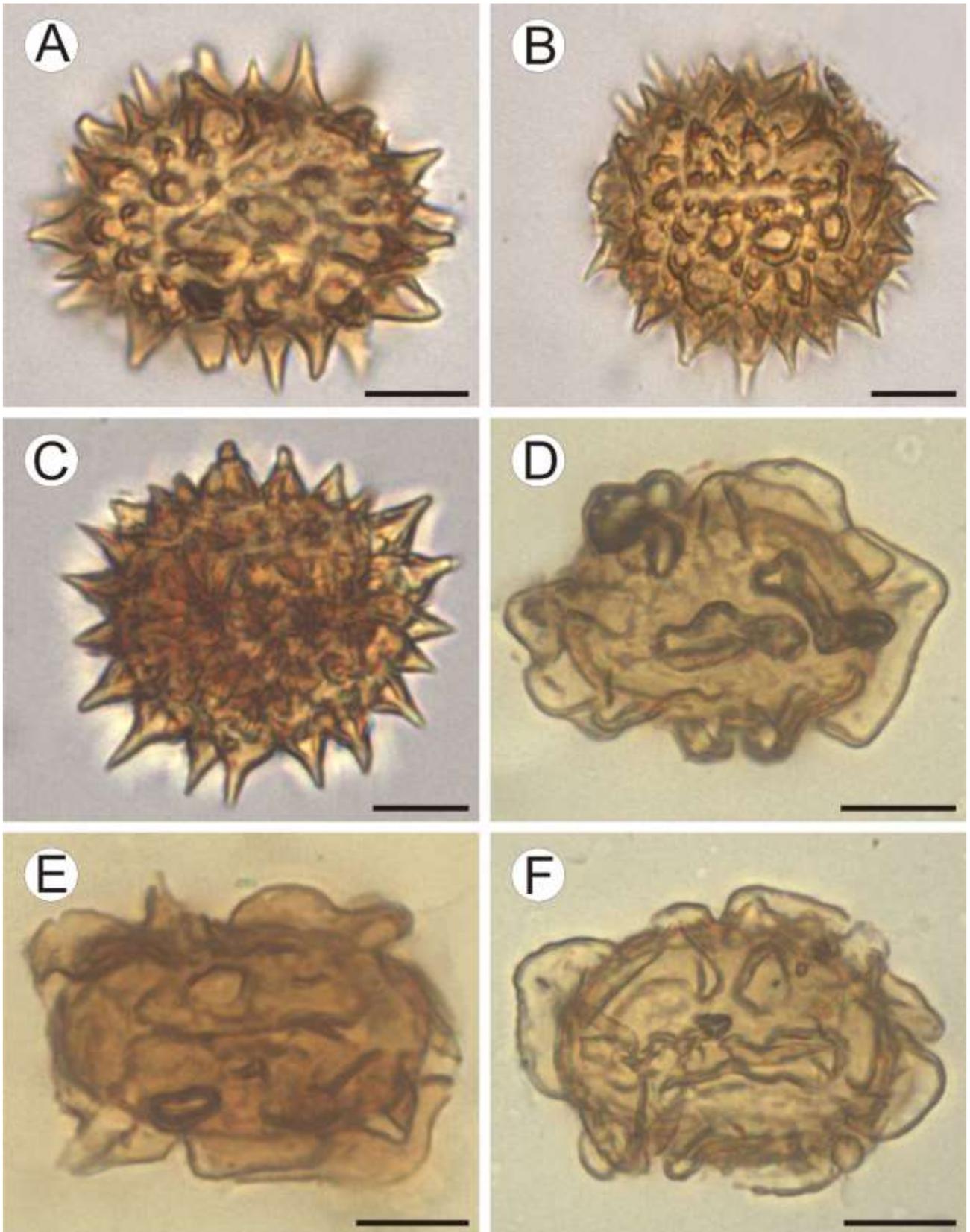


Figura 6. Esporas de *C. ampla* y *C. anniesii* del Cono Sur de América con MO.

Figura 6. A-C: *C. ampla*: A) Espora en vista ecuatorial. El perisporio es equinado. **B)** Espora en vista proximal con espinas cónicas. La lesura se ve circundada por espinas más pequeñas que las del resto de la espora. **C)** Espora en vista distal. Las espinas son de base ancha y ápice atenuado. **D-F: *C. anniesii*: D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues subglobosos, sinuosos. **E)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos, redondeados y alargados. Lesura de margen tenue. **F)** Espora en vista distal con pliegues subglobosos y cortos.

Escala de las barras: **A-F:** 10 μm .

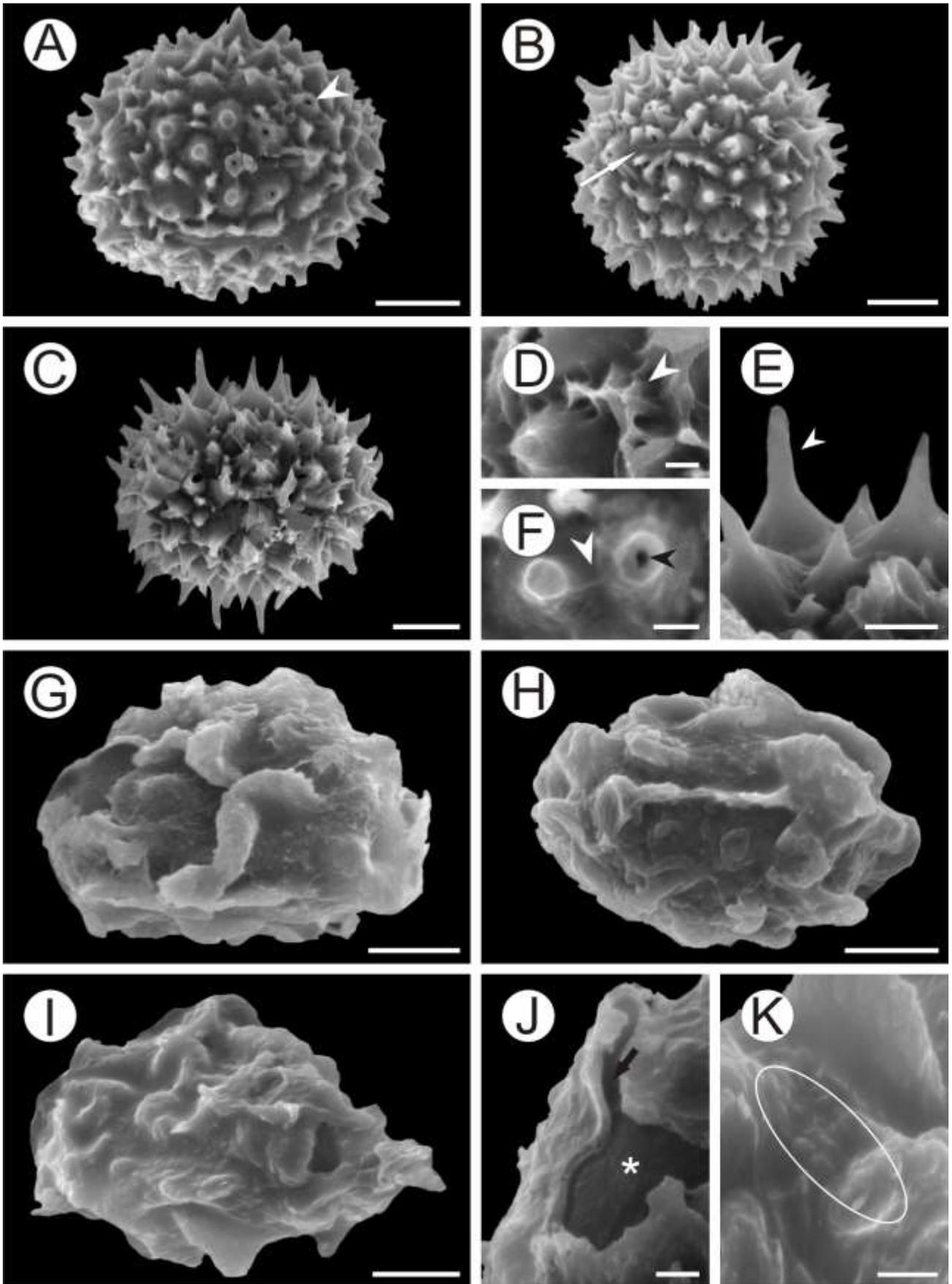


Figura 7. Esporas de *C. ampla* y *C. anniesii* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 7. A-F: *C. ampla*: **A)** Espora en vista ecuatorial. Las espinas tienen en su mayoría el ápice roto y se observa que son huecas en su interior (cabeza de flecha) **B)** Espora en vista proximal. Se observa una fina lesura entre las espinas (flecha). **C)** Espora en vista distal. Se observan espinas de gran longitud y base ancha. **D)** Detalle de la base de las espinas con base coalescentes mediante cordones (cabeza de flecha). **E)** Detalle de una espina con el ápice atenuado (cabeza de flecha) y base ensanchada. **F)** Detalle de la base de las espinas con la base sin cordones (cabeza de flecha blanca). Ápice de una espina hueco (cabeza de flecha negra). **G-K: *C. anniesii*:** **G)** Espora en vista ecuatorial con pliegues dispersos, subglobosos y sinuosos. **H)** Espora en vista proximal. La lesura es bien notoria, a ambos lados de la misma se observan pliegues subglobosos, cortos. **I)** Espora en vista distal. Pliegues cortamente lineares son observados. **J)** Detalle de una fractura del esporoderma. Se observa la base del pliegue (asterisco) y la cavidad del pliegue (flecha). **K)** Superficie del perisporio finamente escabrada (círculo).
Escala de las barras: **A-C; H-I:** 10 μm ; **D:** 1 μm ; **E:** 3 μm ; **F; J-K:** 2 μm ; **G:** 5 μm .

3.1.3. *Ctenitis aspidioides* (Figuras 10A-C; 11A-E)

Descripción general del esporofito: puede ser fácilmente distinguida de las restantes especies 1-pinnado-pinnatífidas sudamericanas por el ápice conforme o subconforme de la lámina, además, la incisión de las pinas son de 1/2-2/3 de la distancia entre el ápice del segmento y la costa, lo que la convierte en la especie con las pinas menos incisas que el resto de las especies sudamericanas, además, la vena basal de segmentos adyacentes alcanza el margen del seno. También posee escaso indumento.

Hábitat: terrestre, endémico de selvas umbrófilas densas o bosques estacionales semidecíduos, 30-1100 m.

Distribución: noreste a sureste de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 35 (43,4) 45,5 μm , el diámetro ecuatorial menor de 24,9 (32,5) 41,3 μm , el diámetro polar 26,9 (32,7) 42 μm . La lesura es de 21 (27,9) 35 μm de largo. Exosporio liso de 0,5-0,7 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues estrechos, dispersos, en su mayoría largos (Figs. 10, A; 11, A), que pueden fusionarse entre sí (Fig. 11, C), de 7-31,9 μm de largo, 1,3-5,8 μm de ancho y 2,9-6,8 μm de alto. Superficie del perisporio escabrada (Fig. 11, E). Algunos cuerpos esféricos son observados con MEB en la superficie del perisporio (Fig. 11, D).

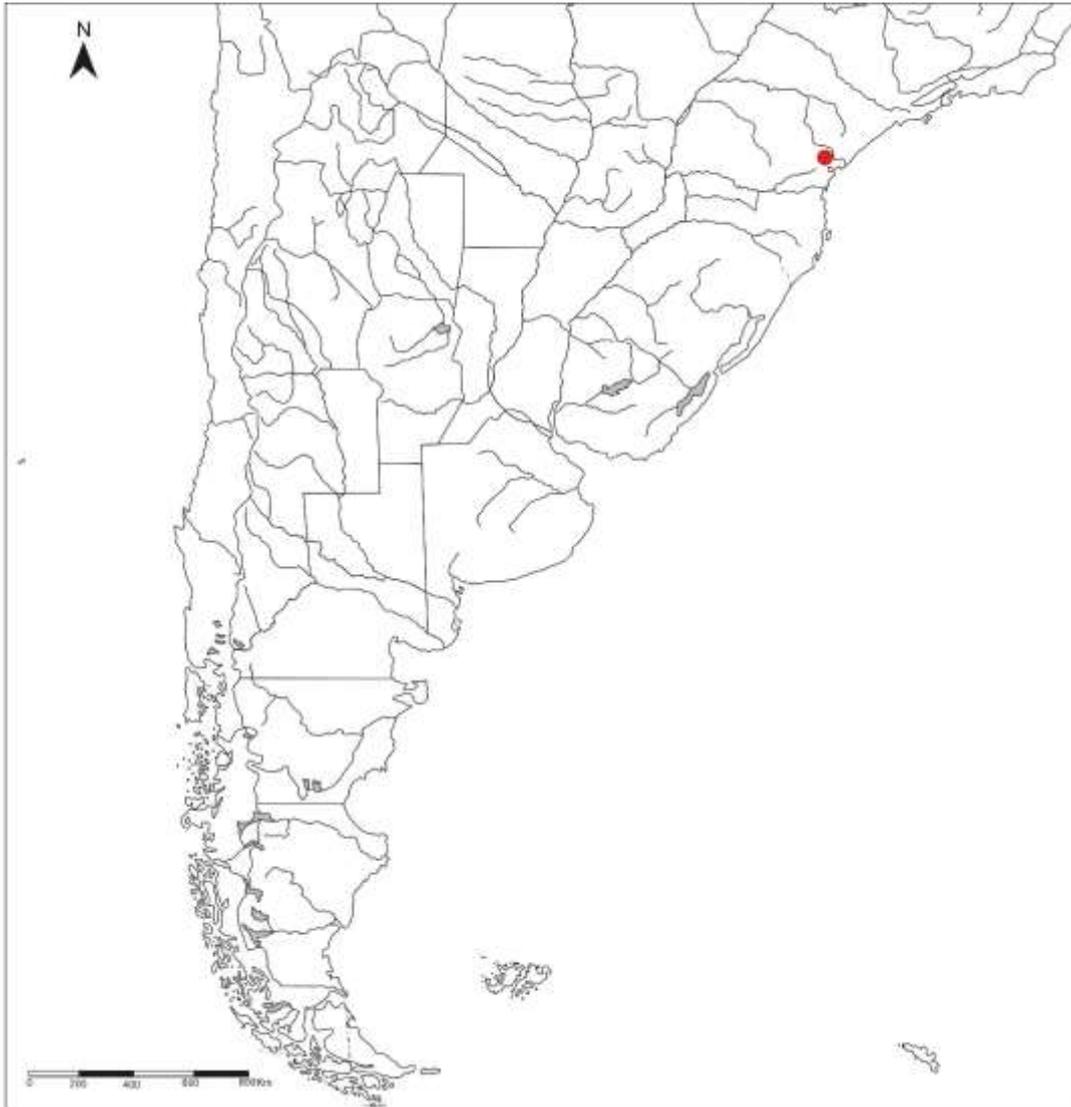


Figura 8. Distribución de *C. aspidioides* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

3.1.4. *Ctenitis bigarellae* (Figuras 10D-F; 11F-I)

Descripción general del esporofito: puede ser reconocida por los tricomas filiformes hialinos entre las venas en ambas superficies, pero más numerosos adaxialmente, por los tricomas glandulares en el pecíolo, el raquis y la costa abaxialmente, el indusio ciliado y glabro, y por el ancho de las láminas con ca. 1/3 de longitud.

Hábitat: epipétrico o terrestre, en bosques estacionales semidecíduos o selvas lluviosas o en formaciones de areniscas, 800-1600 m.

Distribución: endémica del sur y sureste de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón oscuro. Contorno en vista ecuatorial plano-convexo a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 32,2 (39,7) 49 μm , el diámetro ecuatorial menor de 25,2 (30,2) 37,8 μm , el diámetro polar 23,8 (28,6) 32,2 μm . La lesura es de 18,2 (23,15) 30,8 μm de largo. Se observan pliegues asociados a la lesura (Fig. 11, G). Exosporio liso de 0,6-0,65 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues cortos (Fig. 10, D), subglobosos a lineares (Figs. 10, F; 11, F), de 6,5-16,3 μm de largo, 4 μm de ancho y 3,7-7 μm de alto. Superficie del perisporio microverrucosa a escabrada (Fig. 11, I).

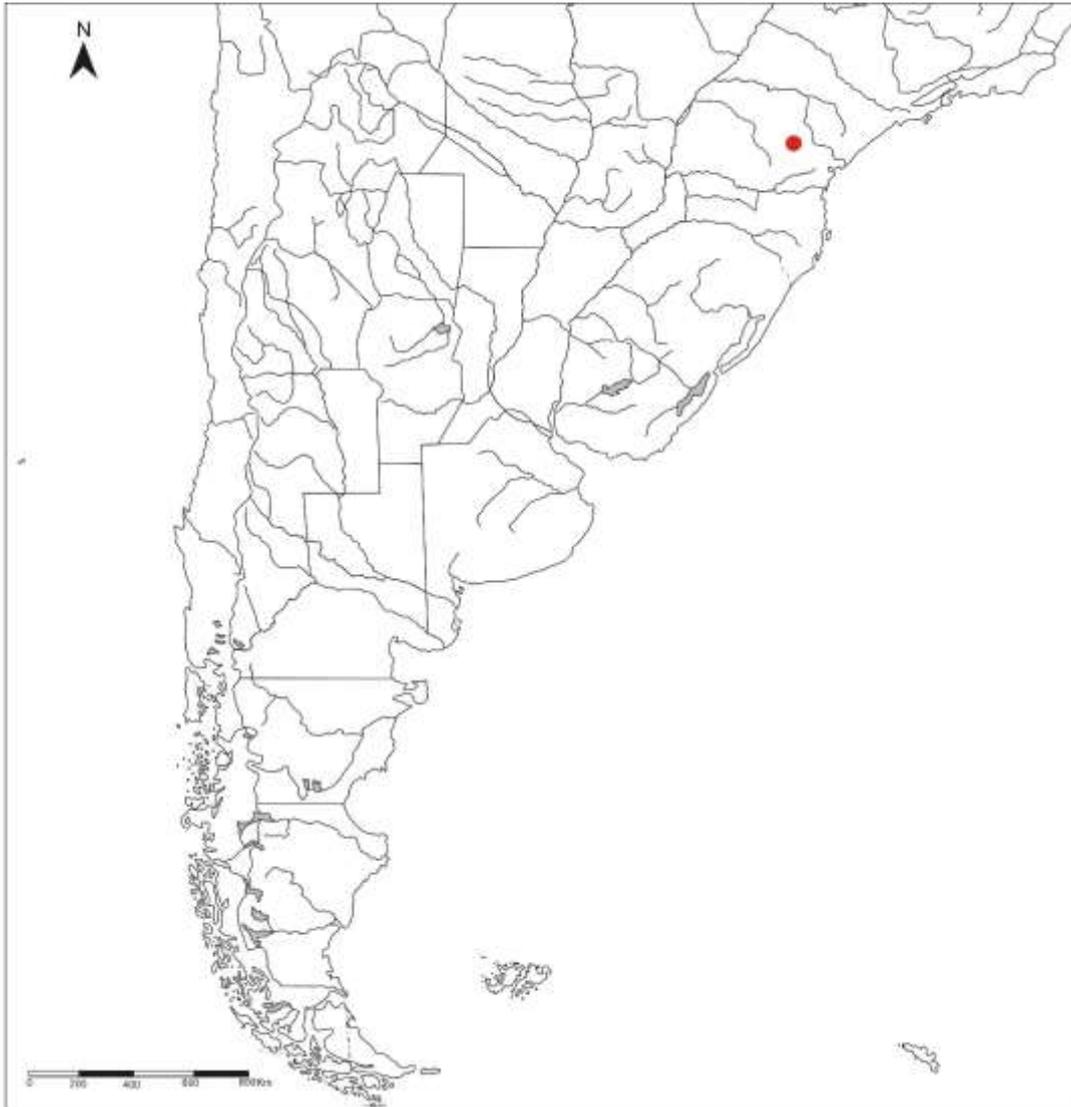


Figura 9. Distribución de *C. bigarellae* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

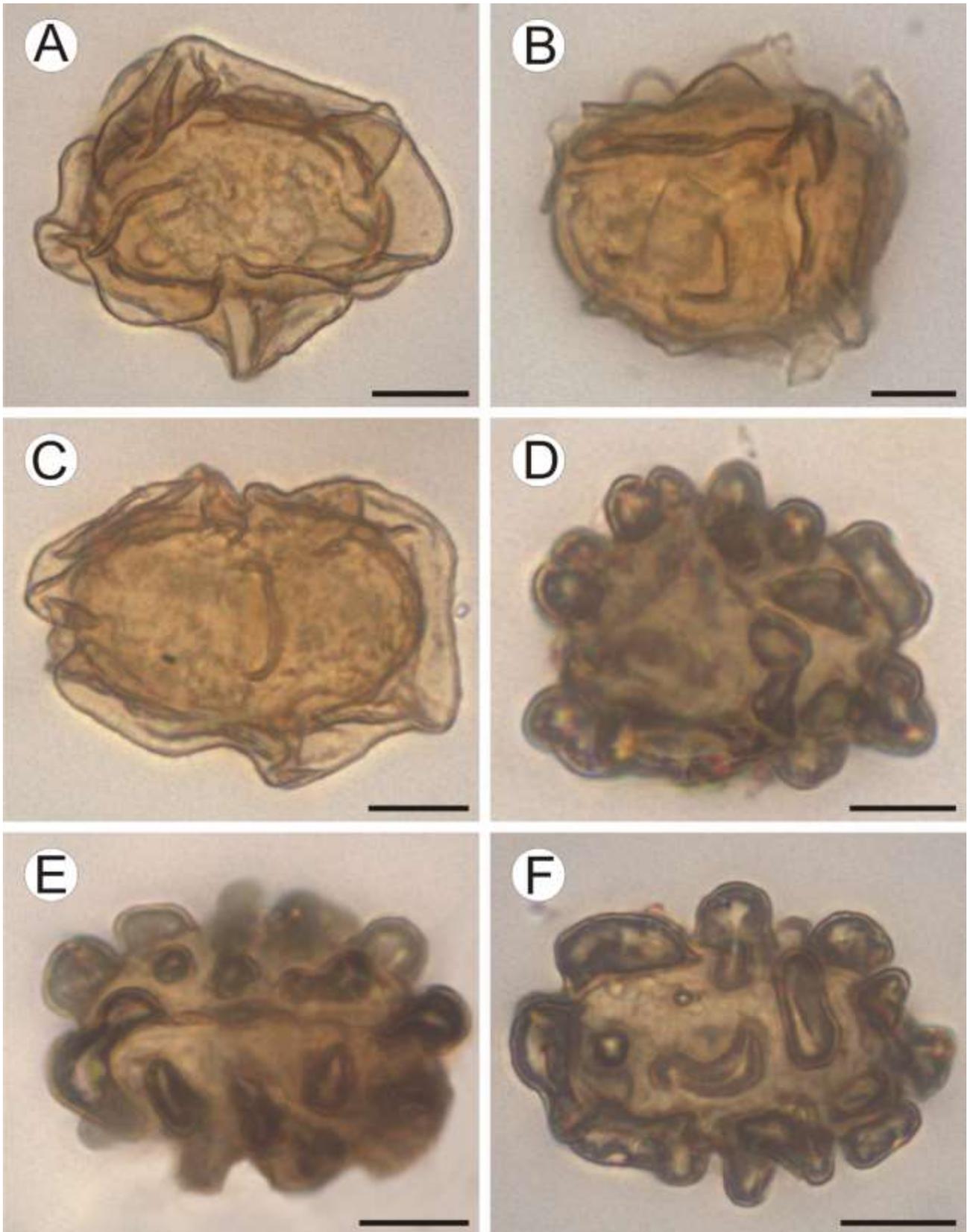


Figura 10. Esporas de *C. aspidioides* y *C. bigarellae* del Cono Sur de América con MO.

Figura 10. A-C: *C. aspidioides*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues en su mayoría altos y largos. **B)** Espora en vista proximal con pliegues cortos. **C)** Espora en vista distal con pliegues largos. **D-F:** *C. bigarellae*: **D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues cortos y subglobosos. **E)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos y redondeados. **F)** Espora en vista distal con pliegues inflados, cortos, subglobosos y lineares.
Escala de las barras: **A-F:** 10 μm .

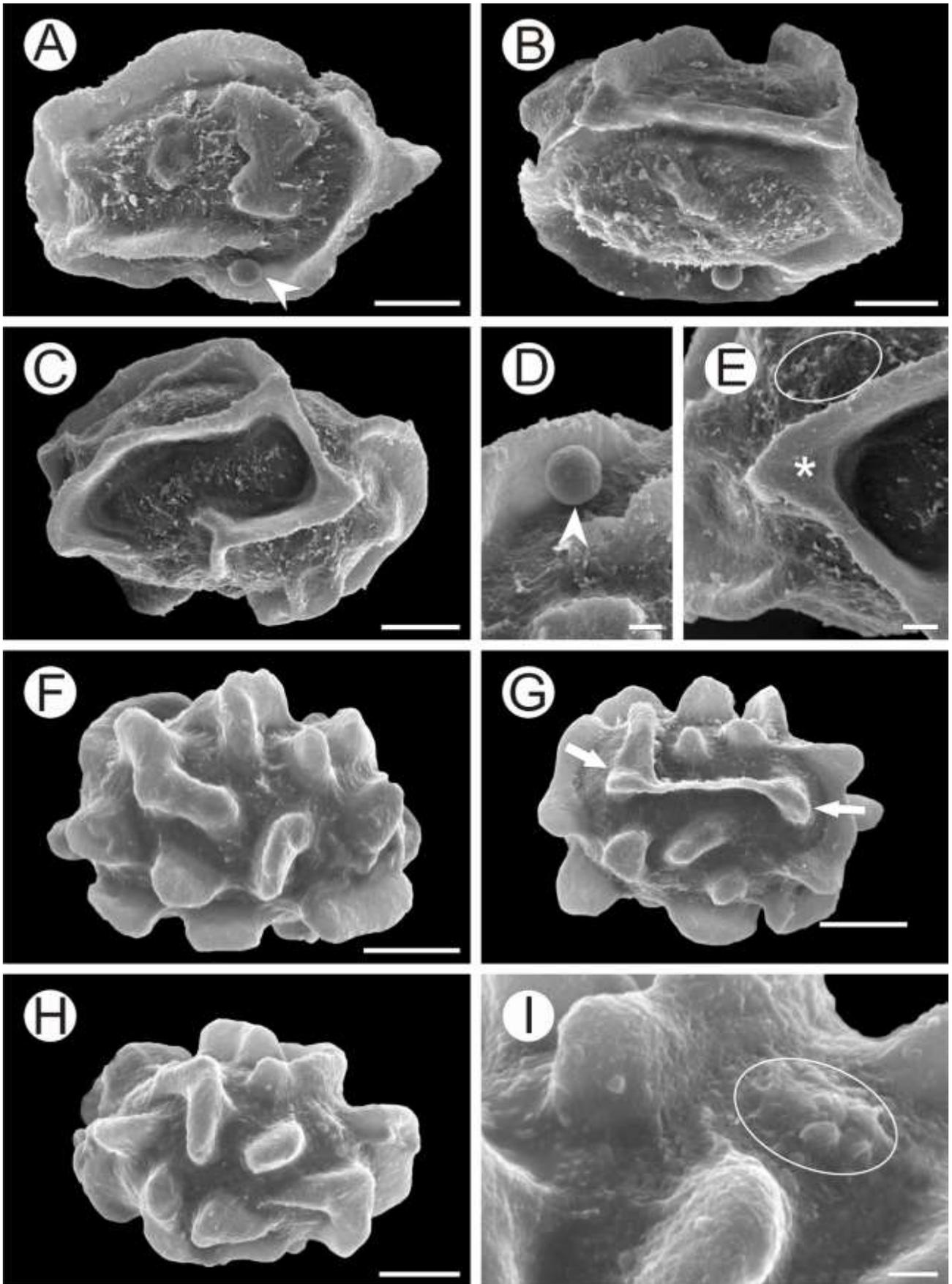


Figura 11. Esporas de *C. aspidioides* y *C. bigarellae* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 11. A-E: *C. aspidioides*: **A)** Espora en vista ecuatorial con algunos pliegues cortos en el cuerpo de la espora y pliegues largos, continuos en los bordes. Se observa una esférula en la superficie del perisporio (cabeza de flecha). **B)** Espora en vista proximal con pliegues largos. **C)** Espora en vista distal con pliegues dispersos, largos y angostos, fusionados formando una areola incompleta. **D)** Una esférula (cabeza de flecha) es observada en la superficie del perisporio. **E)** Superficie del perisporio entre pliegues escabrada (círculo) y finamente escabrada (asterisco) en los pliegues. **F-I: *C. bigarellae*:** **F)** Espora en vista ecuatorial con pliegues dispersos, inflados, subglobosos, cortos. **G)** Espora en vista proximal con pliegues cortos y subglobosos, otros alargados y pliegues asociados a los extremos de la lesura (flechas). **H)** Espora en vista distal con pliegues inflados, subglobosos, cortos y dispersos. **I)** Superficie del perisporio microverrucosa/escabrada (círculo). Escala de las barras: **A-C; F-H:** 10 μm ; **D-E; I:** 2 μm .

3.1.5. *Ctenitis deflexa* (Figuras 14A-C; 15A-E)

Descripción general del esporofito: es reconocido por su rizoma cortamente rastrero y por sus escamas ovadas o lanceoladas con muchas fimbrias cortas y largas a lo largo de todo el margen. Las escamas en el raquis son marrón oscuro en el centro y de borde pálido, mientras que las de la costa y cóstula son uniformemente castaño claro.

Hábitat: terrestre, endémico de las selvas umbrófilas densas, 40-800 m.

Distribución: noreste al sureste de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 28,7 (34,7) 39,2 μm , el diámetro ecuatorial menor de 17,5 (23,9) 28 μm , el diámetro polar 18,2 (23,9) 28 μm . La lesura es de 10,5 (18) 28 μm de largo. Exosporio liso de 0,3-0,45 μm . Perisporio con escultura rugada, formado por pliegues cortos (Figs. 14, A), subglobosos (Figs. 15, A, B), lineares (Fig. 15, C), de 4,7-10,1 μm de largo, 1,6-4,9 μm de ancho y 3.3-5.7 μm de alto. Superficie del perisporio escabrada entre pliegues y psilada en los pliegues (Fig. 15, E).

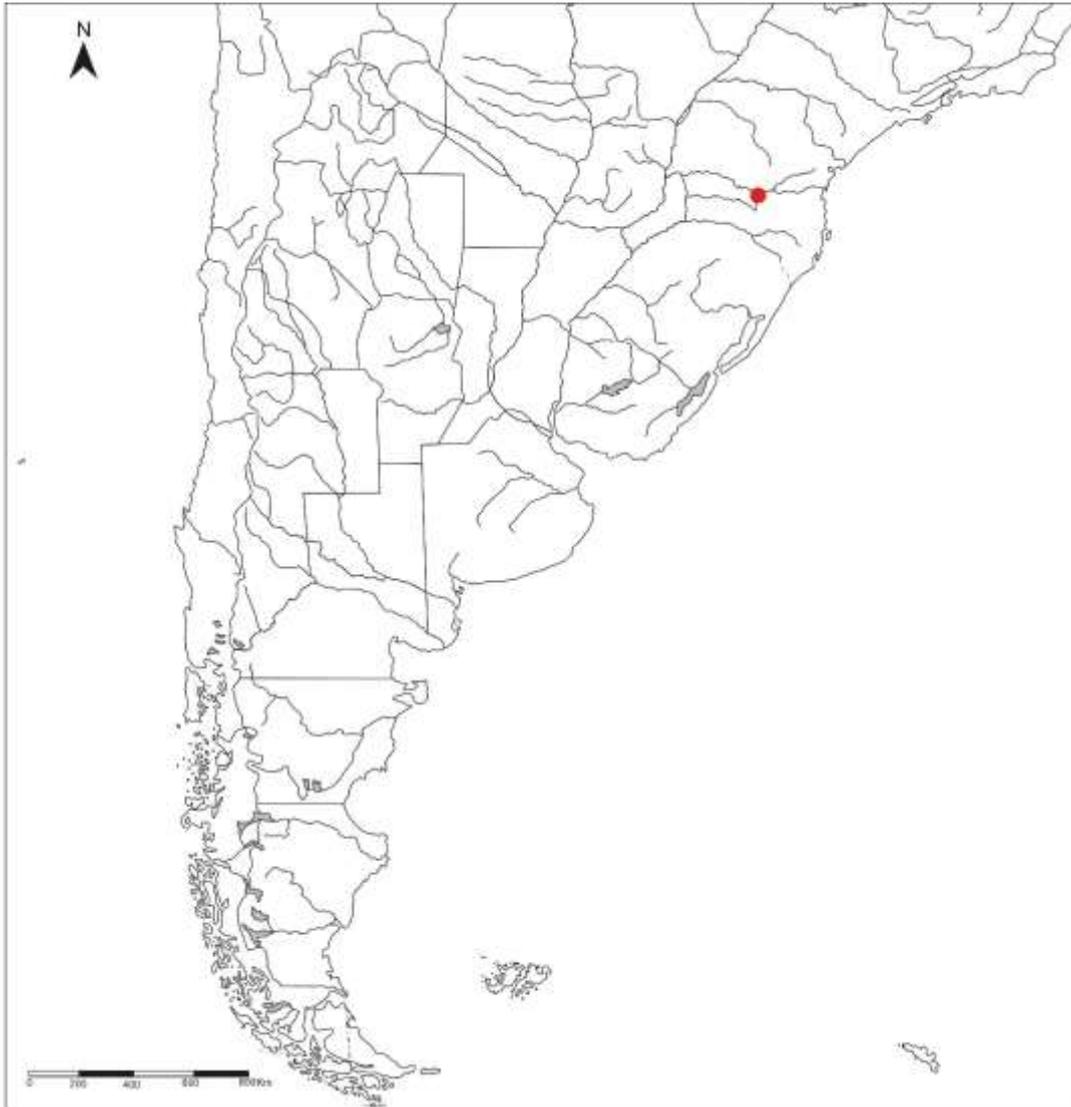


Figura 12. Distribución de *C. deflexa* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

3.1.6. *Ctenitis distans* (Figuras 14D-F; 15F-J)

Descripción general del esporofito: puede ser reconocida por las escamas marrón oscuras a negruzcas en el raquis y, castañas a marrón oscuro a negruzcas hacia el ápice en la costa y cóstula abaxialmente. Las escamas son denticuladas, con dientes en forma de garra, también por presentar pinnas con incisión mayor a 2/3 de la distancia entre el margen y la costa, tejido laminar entre las nervaduras abaxialmente con tricomas glandulares e indusio persistente.

Hábitat: terrestre, endémica de las selvas umbrófilas densas o bosques estacionales semidecíduos, 200-1200 m.

Distribución: Noreste al Sur de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano-convexo a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 31,1 (37,2) 42 μm , el diámetro ecuatorial menor de 23,8 (28,9) 36,4 μm , el diámetro polar 21 (27,8) 33,6 μm . La lesura es de 21 (22,9) 28 μm de largo. Se observan pliegues asociados a la lesura (Fig. 15, G). Exosporio liso de 0,5-0,8 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues lineares y alargados (Figs. 14, D; 15, H) y algunos cortos y subglobosos (Figs. 14, F; 15, F), de 3,4-26,3 μm de largo, 1,7-3,5 μm de ancho y 2,5-5,9 μm de alto. Superficie del perisporio escabrada (Fig. 15, J). Algunos cuerpos esféricos son observados con MEB en la superficie del perisporio (Figs. 15, F, I).

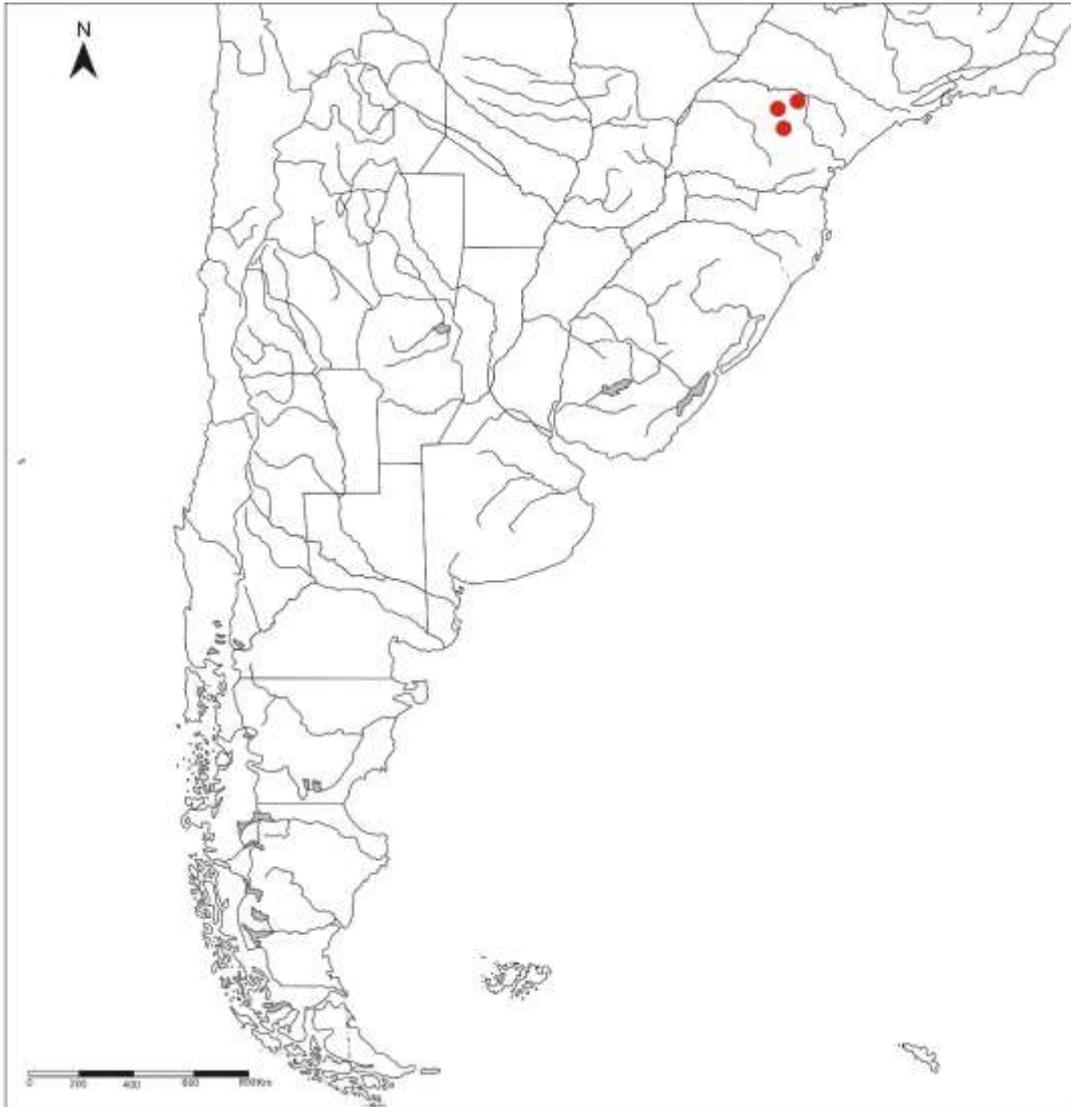


Figura 13. Distribución de *C. distans* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

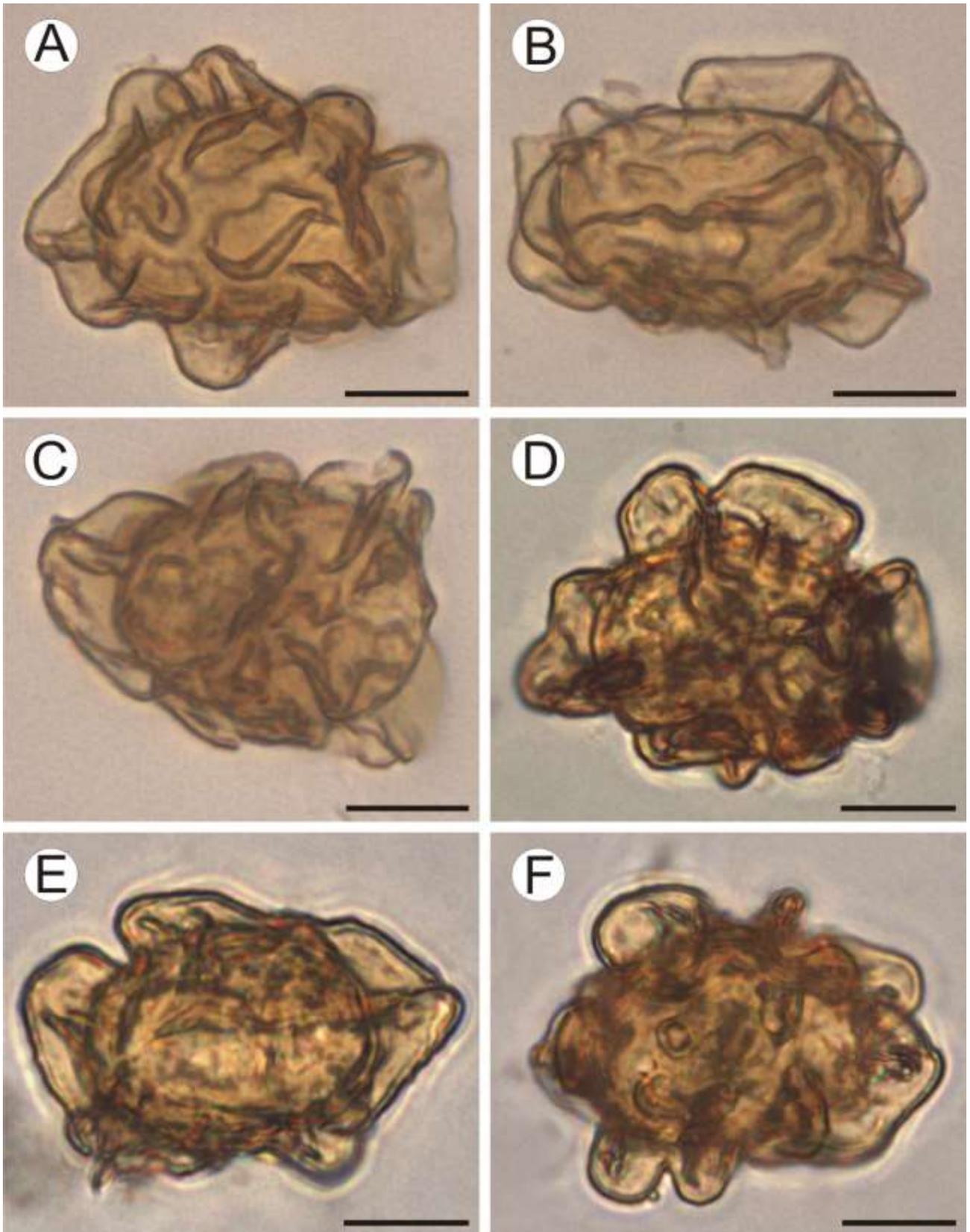


Figura 14. Esporas de *C. deflexa* y *C. distans* del Cono Sur de América con MO.

Figura 14. A-C: *C. deflexa*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues inflados, cortos. **B)** Espora en vista proximal con algunos pliegues largos y altos y otros cortos y bajos. **C)** Espora en vista distal con pliegues delgados, alargados, dispersos, algunos altos. **D-F: *C. distans*:** **D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues inflados, altos y alargados. **E)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos y alargados. **F)** Espora en vista distal con pliegues inflados, cortos.

Escala de las barras: **A-F:** 10 μm .

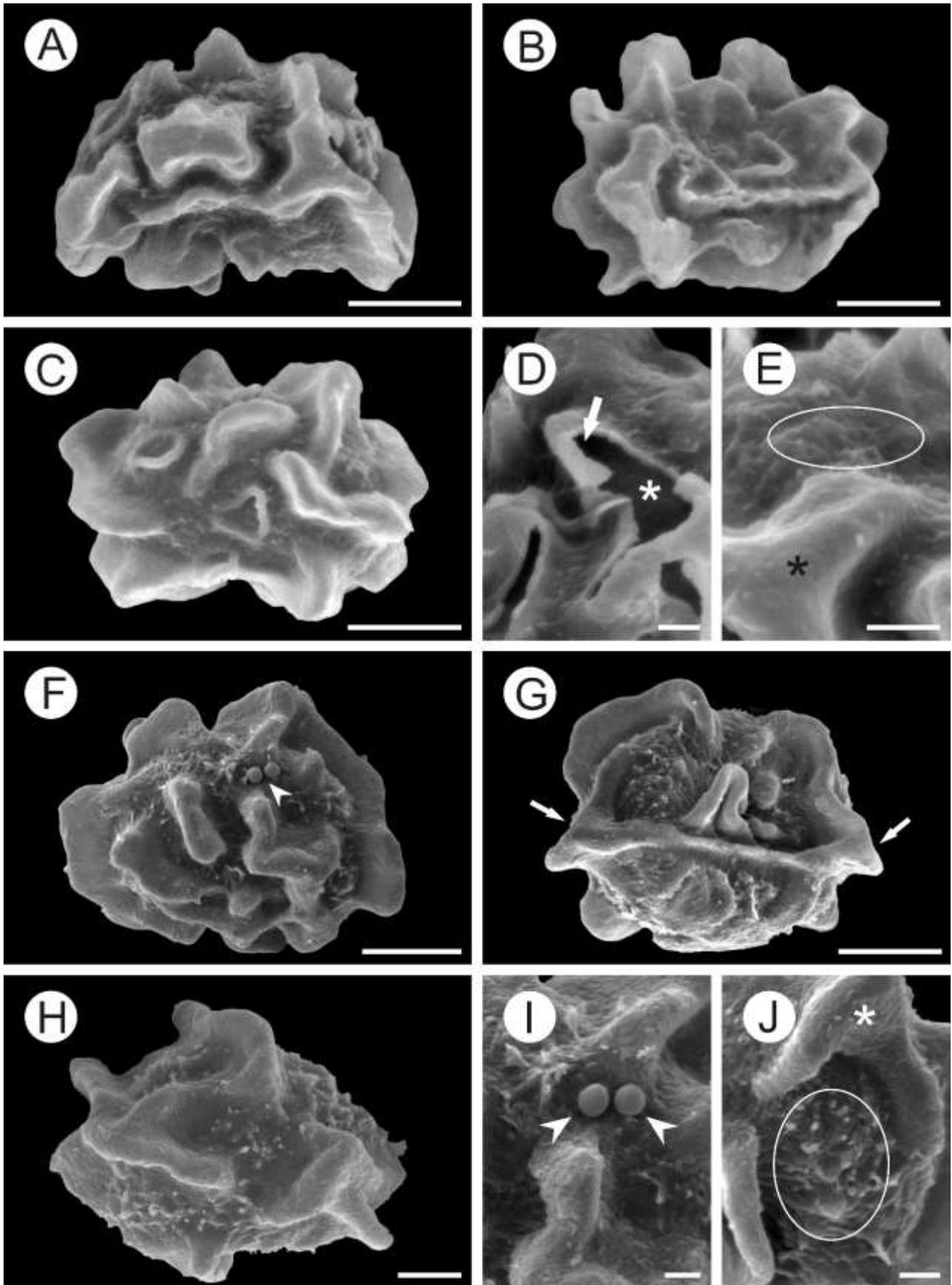


Figura 15. Esporas de *C. deflexa* y *C. distans* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 15. A-E: *C. deflexa*: **A)** Espora en vista ecuatorial. Pliegues cortos, algunos delgados y otros gruesos. **B)** Espora en vista proximal con pliegues cortos e inflados. **C)** Espora en vista distal con pliegues lineares. **D)** Detalle de una fractura del esporodermo. Se observan la base de un pliegue (asterisco) y la cavidad del pliegue (flecha). **E)** Superficie del perisporio escabrada entre los pliegues (círculo) y psilada en los pliegues (asterisco). **F-J: *C. distans*:** **F)** Espora en vista ecuatorial con pliegues dispersos, inflados, lineares. Un par de cuerpos esféricos son observados en la superficie del perisporio (cabeza de flecha). **G)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos, lineares. Se observan pliegues evidentes asociados a la lesura (flechas). **H)** Espora en vista distal con pliegues lineares. **I)** Detalle de cuerpos esféricos en la superficie del perisporio (cabezas de flecha). **J)** Superficie del perisporio escabrada (círculo) entre pliegues y finamente escabrada en los pliegues (asterisco).

Escala de las barras: **A-C; F-G:** 10 μm ; **H:** 5 μm ; **D-E; I-J:** 2 μm .

3.1.7. *Ctenitis eriocaulis* (Figuras 18A-C; 19A-D)

Descripción general del esporofito: puede ser reconocida por densas escamas castaño claro y subuladas en pecíolo, raquis, costa y cóstula abaxialmente, tricomas catenados y baciliformes en ambas superficies laminares entre venas y por un gran indusio con tricomas baciliformes y glandulares.

Hábitat: terrestre, endémico de las selvas umbrófilas densas o bosques estacionales semidecíduos, 0-900 m.

Distribución: Noreste a sur de Brasil y Paraguay.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano-convexo a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 33,6 (37,4) 42 μm , el diámetro ecuatorial menor de 23,8 (29,8) 32,2 μm , el diámetro polar 26,6 (29) 33,6 μm . La lesura es de 14,3 (15,7) 16,8 μm de largo. Se observan pliegues asociados a la lesura (Fig. 19, B). Exosporio liso de 0,5-0,6 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues cortos, subglobosos y con forma de asa (Figs. 18, A, C), o robustos y alargados (Fig. 19, A), de 3,5-9,7 μm de largo, 1,5-6,3 μm de ancho y 3,4-7,4 μm de alto. Superficie del perisporio escabrada entre los pliegues y volviéndose menos escabrada hasta ser psilada en el ápice de los pliegues (Fig. 19, D).

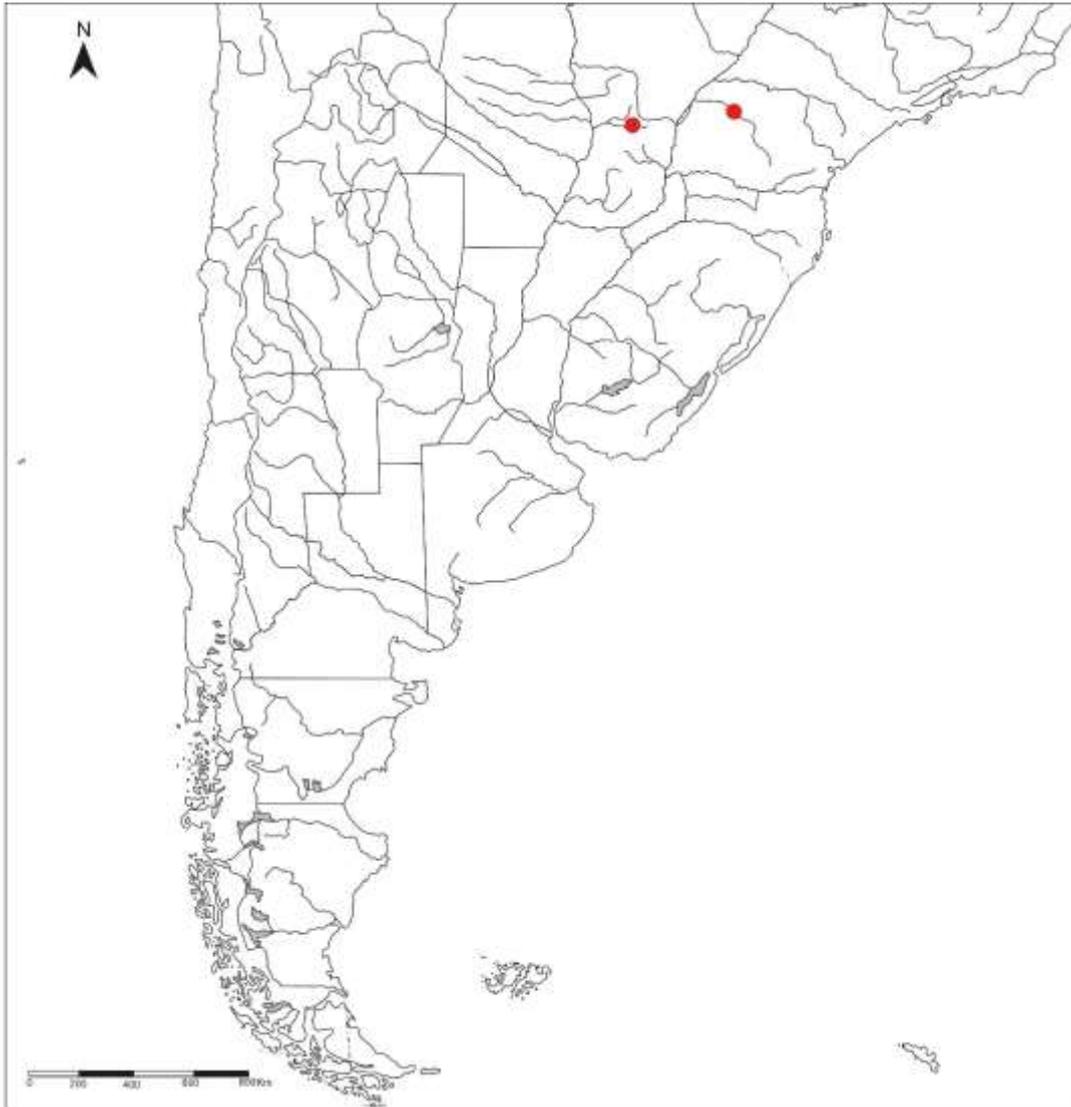


Figura 16. Distribución de *C. eriocaulis* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

3.1.8. *Ctenitis falciculata* (Figuras 18D-F; 19E-I)

Descripción general del esporofito: es reconocida principalmente por las escamas marrón oscuro a negruzcas del raquis y la alta densidad de tricomas catenados en los ejes, superficie laminar entre venas e indusio.

Hábitat: terrestre en selvas lluviosas o bosques semidecíduos, 30-1270 m.

Distribución: Guyana y norte a sur de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal a ligeramente oblongo. El diámetro ecuatorial mayor es de 30,8 (37,9) 49,3 μm , el diámetro ecuatorial menor de 22,4 (28,8) 37,1 μm , el diámetro polar 18,9 (28,8) 37,8 μm . La lesura es de 15,4 (22,5) 35 μm de largo. Se observan pliegues asociados a la lesura (Fig. 19, F). Exosporio liso de 0,5-0,9 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues alargados (Fig. 18, D), subglobosos (Fig. 18, F), lineares, sinuosos y angostos (Figs. 19, E, G) que pueden fusionarse entre sí (Fig. 19, G), 19 de 2,9-19,2 μm de largo, de 1,4-2,9 μm de ancho y 1,7-4 μm de alto. Superficie del perisporio densamente escabrada entre los pliegues y finamente escabrada en los pliegues (Fig. 19, I).

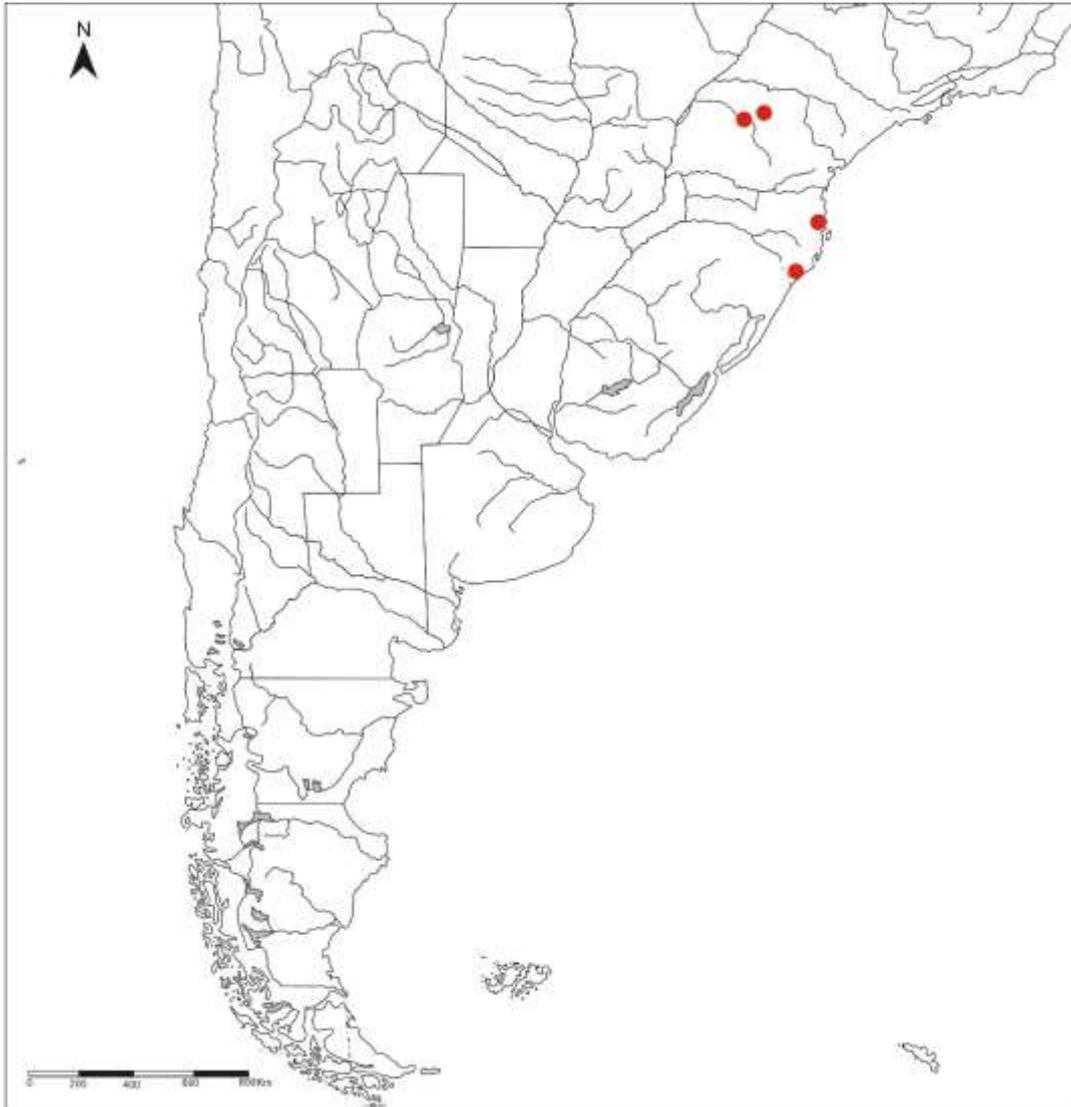


Figura 17. Distribución de *C. falciculata* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

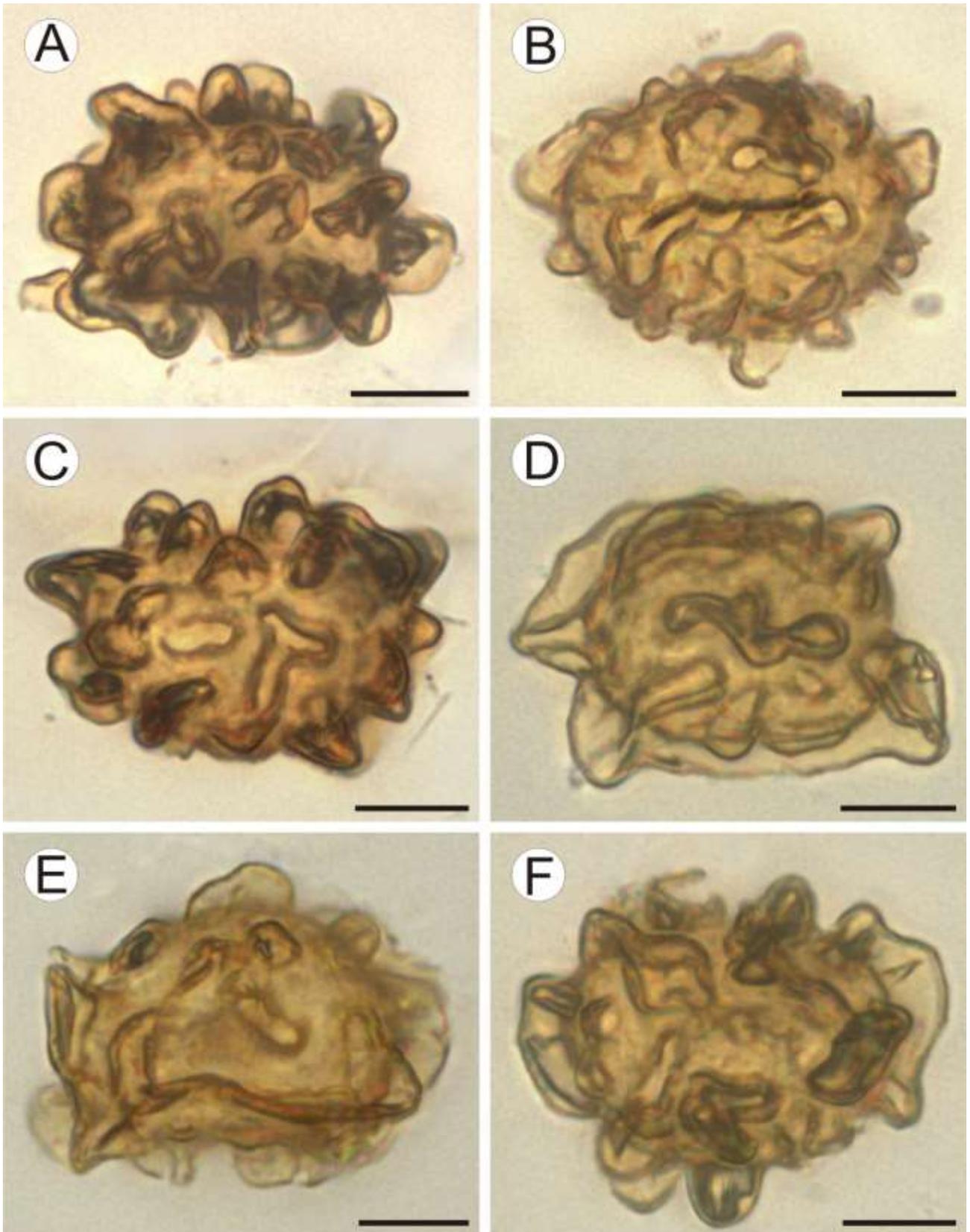


Figura 18. Esporas de *C. eriocaulis* y *C. falciculata* del Cono Sur de América con MO.

Figura 18. A-C: *C. eriocaulis*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues cortos, inflados, subglobosos o en forma de asa. **B)** Espora en vista proximal con pliegues cortos y subglobosos. **C)** Espora en vista distal con pliegues inflados, cortos y en forma de asa. **D-F: *C. falciculata*:** **D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues subglobosos y lineares. **E)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos, cortos y subglobosos. **F)** Espora en vista distal con pliegues cortos y subglobosos, dispersos.

Escala de las barras: **A-F:** 10 μm .

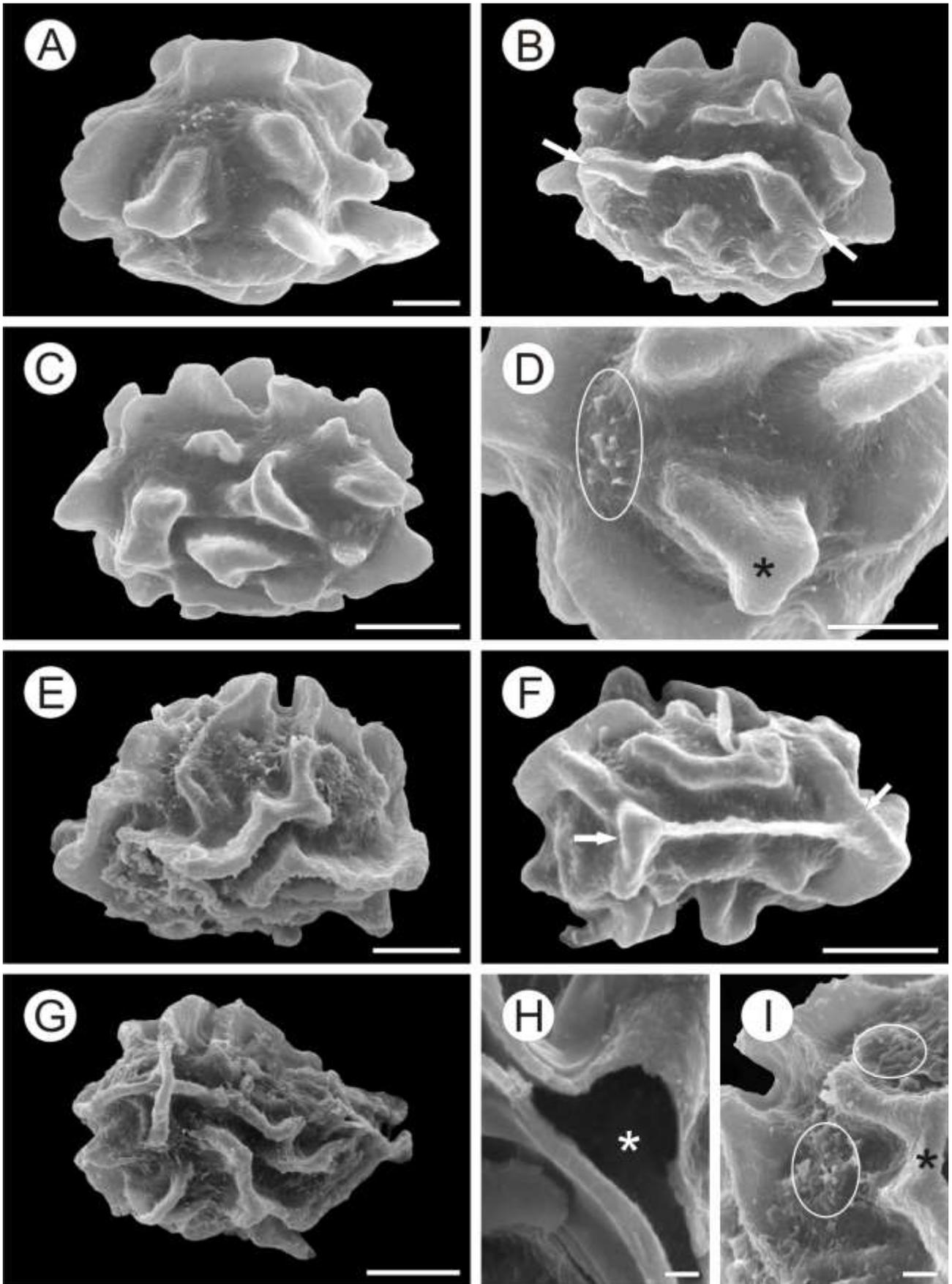


Figura 19. Esporas de *C. eriocaulis* y *C. falciculata* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 19. A-D: *C. eriocaulis*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues dispersos, inflados, subglobosos y lineares. **B)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos, cortos e inflados. Pliegues evidentes asociados a la lesura son observados (flechas). **C)** Espora en vista distal con pliegues dispersos, cortos, con forma de asa. **D)** Superficie del perisporio escabrada (círculo) entre pliegues y volviéndose menos escabrada hasta ser psilada en el ápice de los pliegues (asterisco). **E-I: *C. falciculata*:** **E)** Espora en vista ecuatorial con pliegues lineares y angostos, alargados. **F)** Espora en vista proximal con pliegues inflados, subglobosos y lineares, sinuosos. Se observan pliegues asociados a la lesura (flechas). **G)** Espora en vista distal con pliegues alargados, angostos, parcialmente fusionados. **H)** Fractura del esporoderma, se observa la parte basal del pliegue hueco (asterisco). **I)** Superficie del perisporio densamente escabrada (círculos) entre pliegues y finamente escabrada (asterisco) en los pliegues.

Escala de las barras: **A; D:** 5 μm ; **B-C; E-G:** 10 μm ; **H:** 1 μm ; **I:** 2 μm .

3.1.9. *Ctenitis fenestralis* (Figura 22A-C)

Descripción general del esporofito: puede ser reconocida por su soro sin indusio, pero con un conjunto de escamas tipo pelo (proescamas) entre los esporangios. Esta especie es muy escamosa en los ejes abaxialmente, costa, cóstula y a veces en las venas. Las escamas son castañas, ovadas con una base fuertemente cordada (seno profundo) y ligeramente denticuladas con algunas fimbrias.

Hábitat: terrestre, endémico de las selvas umbrófilas densas, 400-1350 m.

Distribución: Sureste a sur de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón oscuro. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 28 (33,9) 44,8 μm , el diámetro ecuatorial menor de 14,7 (21,4) 26,3 μm , el diámetro polar 21 (26,4) 38,5 μm . La lesura es de 10,5 (20,5) 30,8 μm de largo. Exosporio liso. Perisporio con escultura rugada, formada por unos pocos pliegues bajos (Figs. 23, A, C).

Observaciones: se hallaron esporas inmaduras (Fig. 23, B).

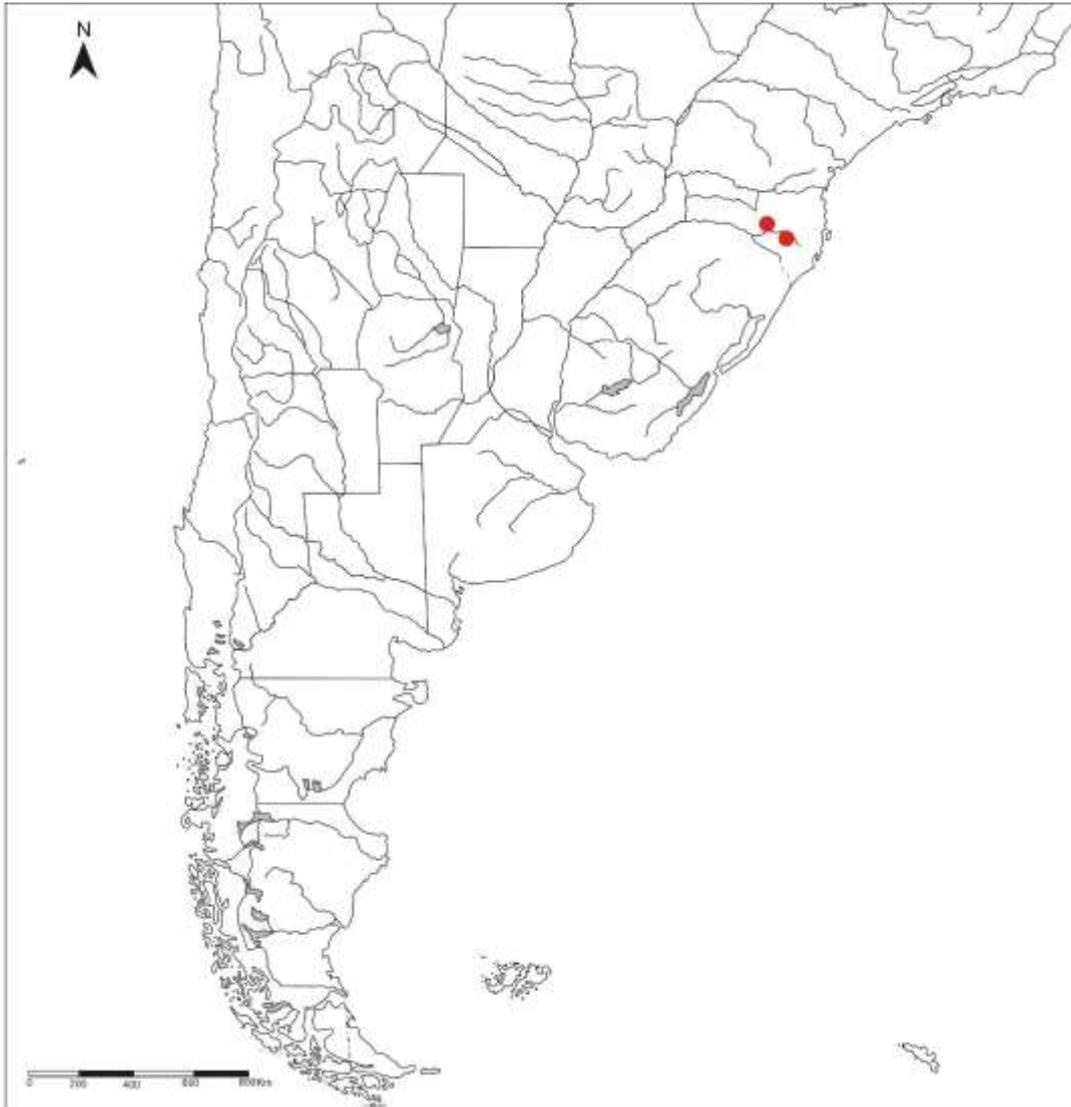


Figura 20. Distribución de *C. fenestralis* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

3.1.10. *Ctenitis glandulosa*

Descripción general del esporofito: esta especie es reconocida por los tricomas glandulares en el pecíolo, raquis, costa (abaxialmente), superficie laminar (principalmente en la cara abaxial) y el indusio.

Hábitat: terrestre, principalmente en bosques semidecíduos y selvas lluviosas en regiones montañas, entre los 30-1780 m.

Distribución: Guyana y noreste a sureste de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues groseros, dispersos, sinuosos, largos que pueden formar retículos incompletos. Superficie del perisporio escabrada (extraído y modificado de Viveros y Salino, 2015; Viveros et al., 2018).

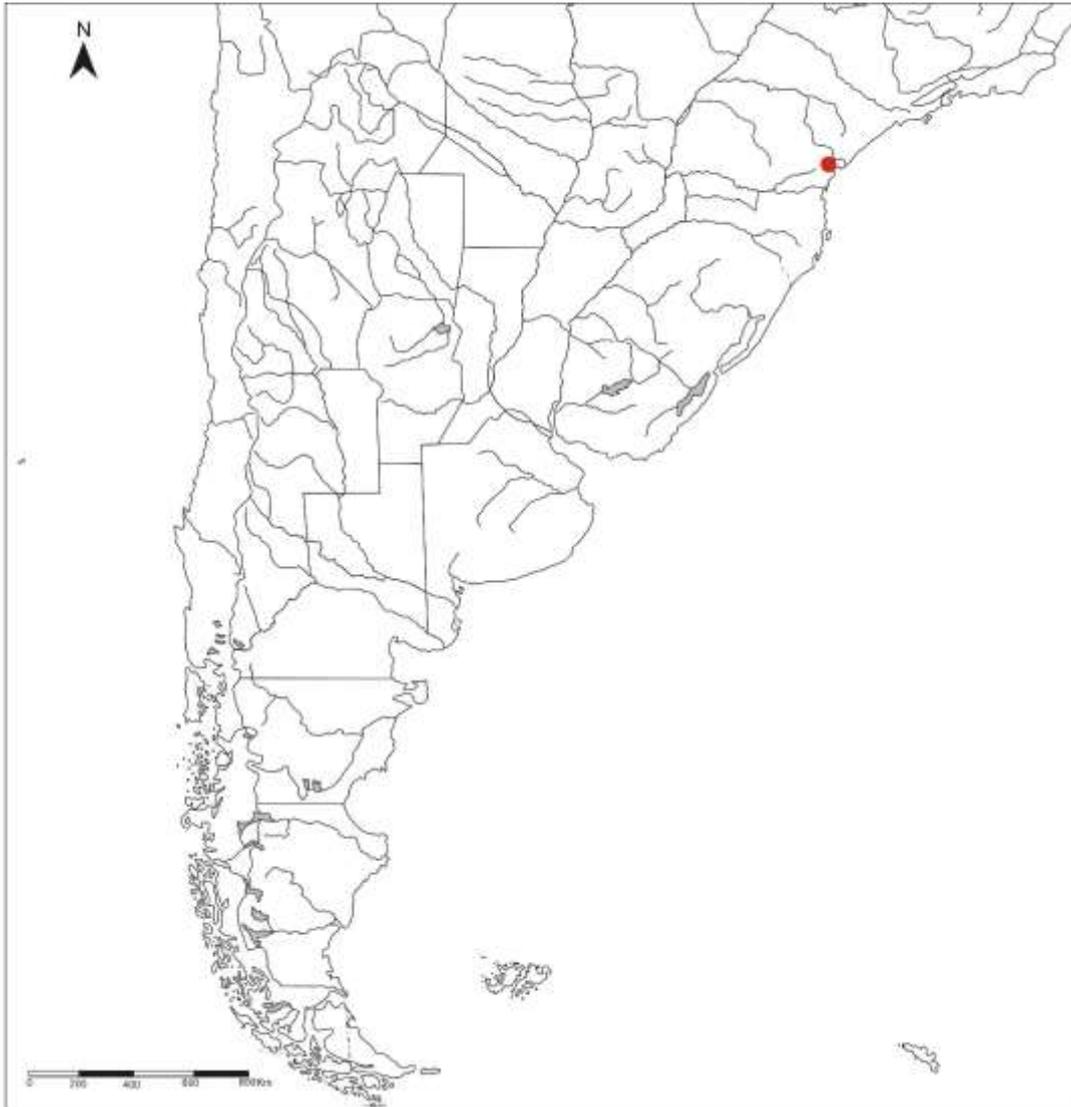


Figura 21. Distribución de *C. glandulosa* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

3.1.11. *Ctenitis nervata* (Figuras 23D-F; 24A-D)

Descripción general del esporofito: puede ser reconocida por la pinna incisa cerca de 1/2-2/3 de la distancia entre el ápice del segmento y la costa, soro sin indusio y las venas son usualmente negruzcas. Las venas basales de segmentos adyacentes alcanzan el margen en el seno, a veces una vena alcanza el margen en el seno y la otra termina antes del margen hacia el seno, o dos pares de venas basales alcanzan el margen en el seno. El indumento es escaso.

Hábitat: terrestre en selvas umbrófilas densas, 35-1470 m.

Distribución: Bolivia, Sureste a Sur de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 35 (42,6) 50,4 μm , el diámetro ecuatorial menor de 26,3 (30,4) 35,7 μm , el diámetro polar 23,8 (30,1) 36,4 μm . La lesura es de 19,6 (27,6) 40,6 μm de largo. Exosporio liso de 0,6-0,7 μm . Perisporio con la escultura rugada, formada por pliegues lineares, de longitud variable, delgados (Figs. 23, D, F; 24, A) o groseramente anchos que pueden fusionarse parcialmente (Fig. 24, C), de 5,9-24,8 μm de largo, 3,3-6,2 μm de ancho y 2,7-6,8 μm de alto. Superficie del perisporio escabrada entre pliegues y finamente escabrada/psilada en los pliegues (Fig. 24, D).

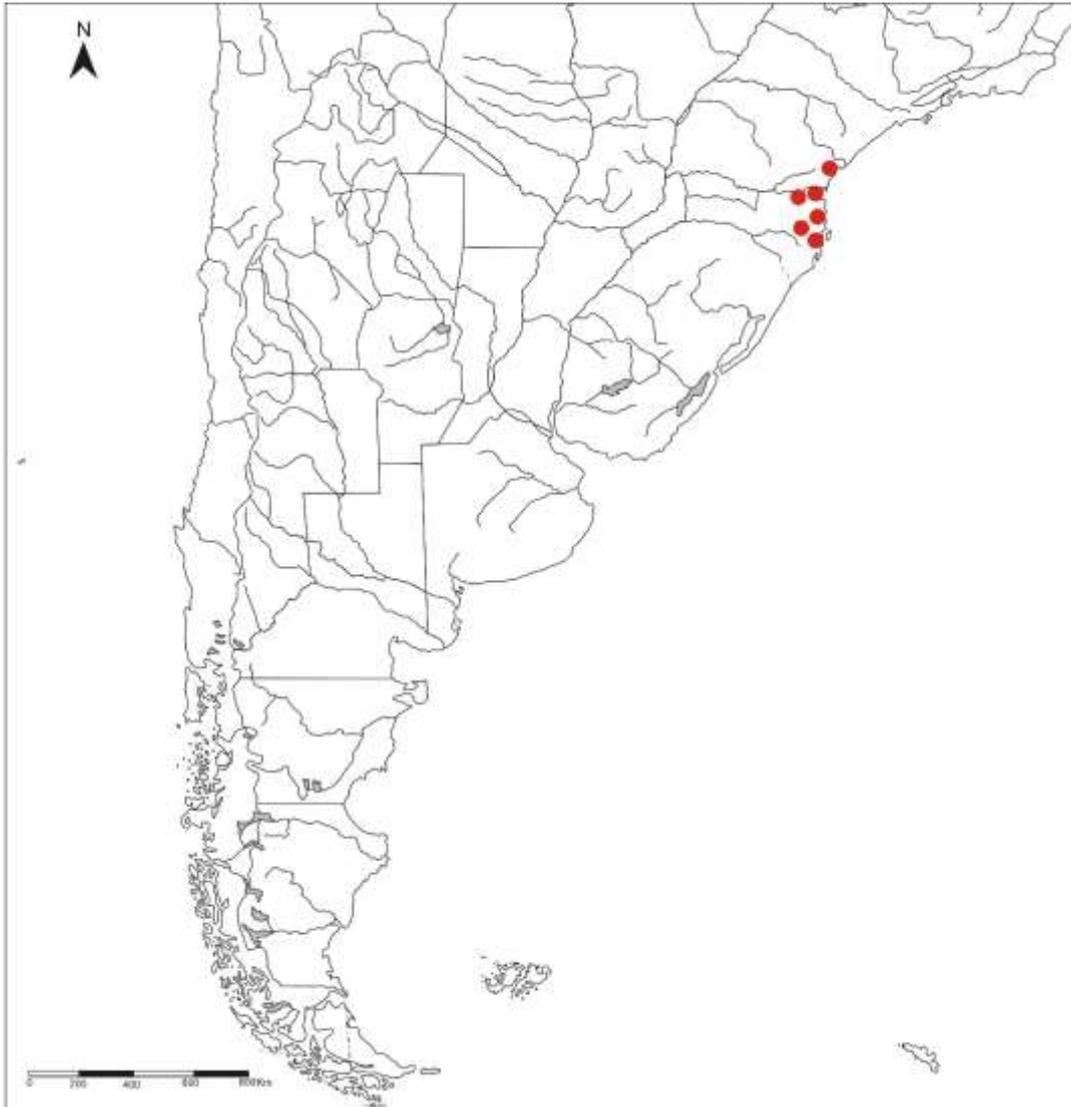


Figura 22. Distribución de *C. nervata* en el Cono Sur de América (Extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

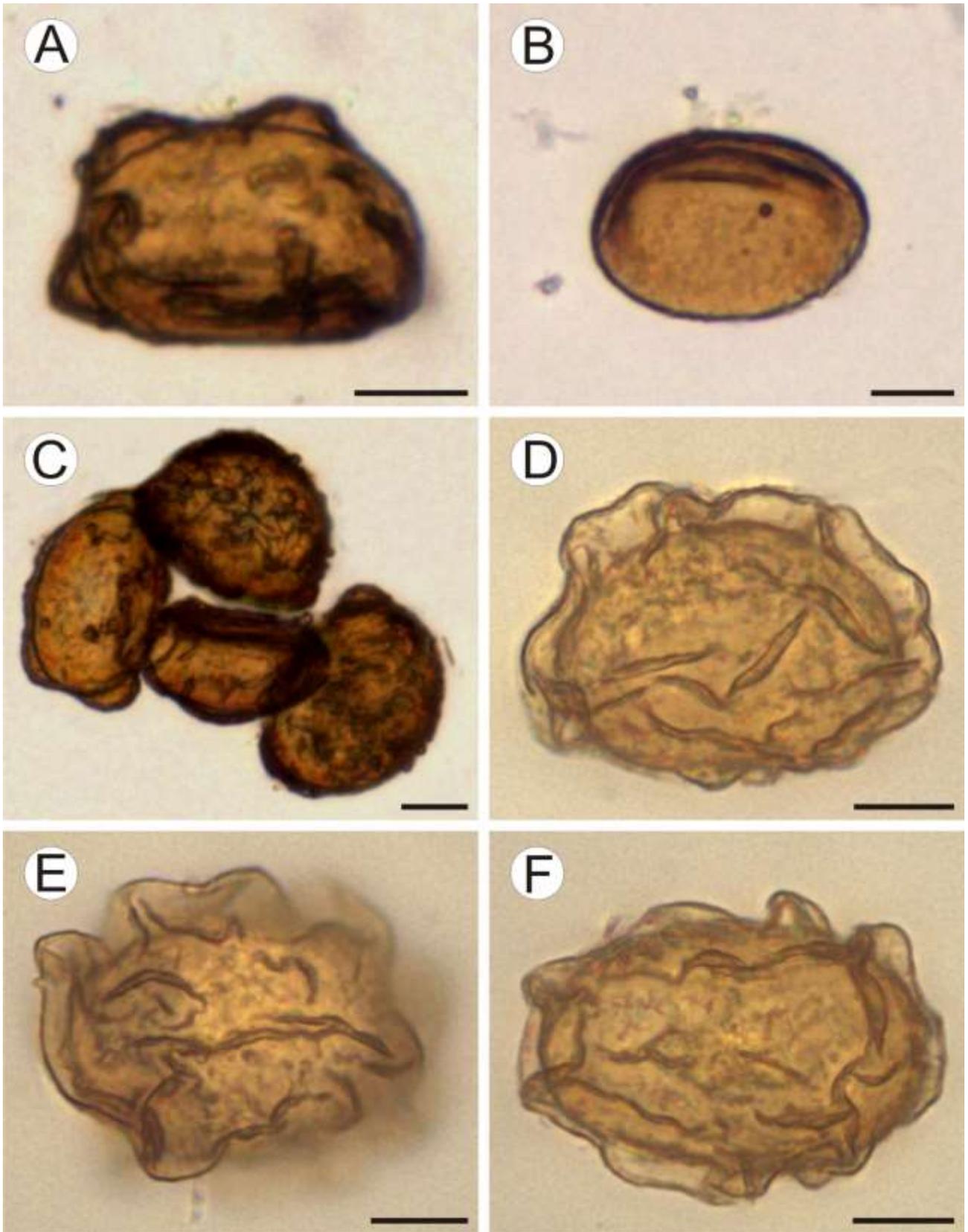


Figura 23. Esporas de *C. fenestralis* y *C. nervata* del Cono Sur de América con MO.

Figura 23. A-C: *C. fenestralis*: **A)** Espora en vista ecuatorial con unos pocos pliegues bajos. **B)** Espora en vista ecuatorial y sin pliegues desarrollados. **C)** Una aparente tétrada de esporas en desarrollo. Se observan algunos pocos pliegues bajos en todas ellas. **D-F: *C. nervata*:** **D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues lineares y delgados. **E)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos, delgados, algunos cortos y otros alargados. **F)** Espora en vista distal con unos pocos pliegues lineares cortos y la mayoría alargados y delgados.

Escala de las barras: **A-F:** 10 μm .

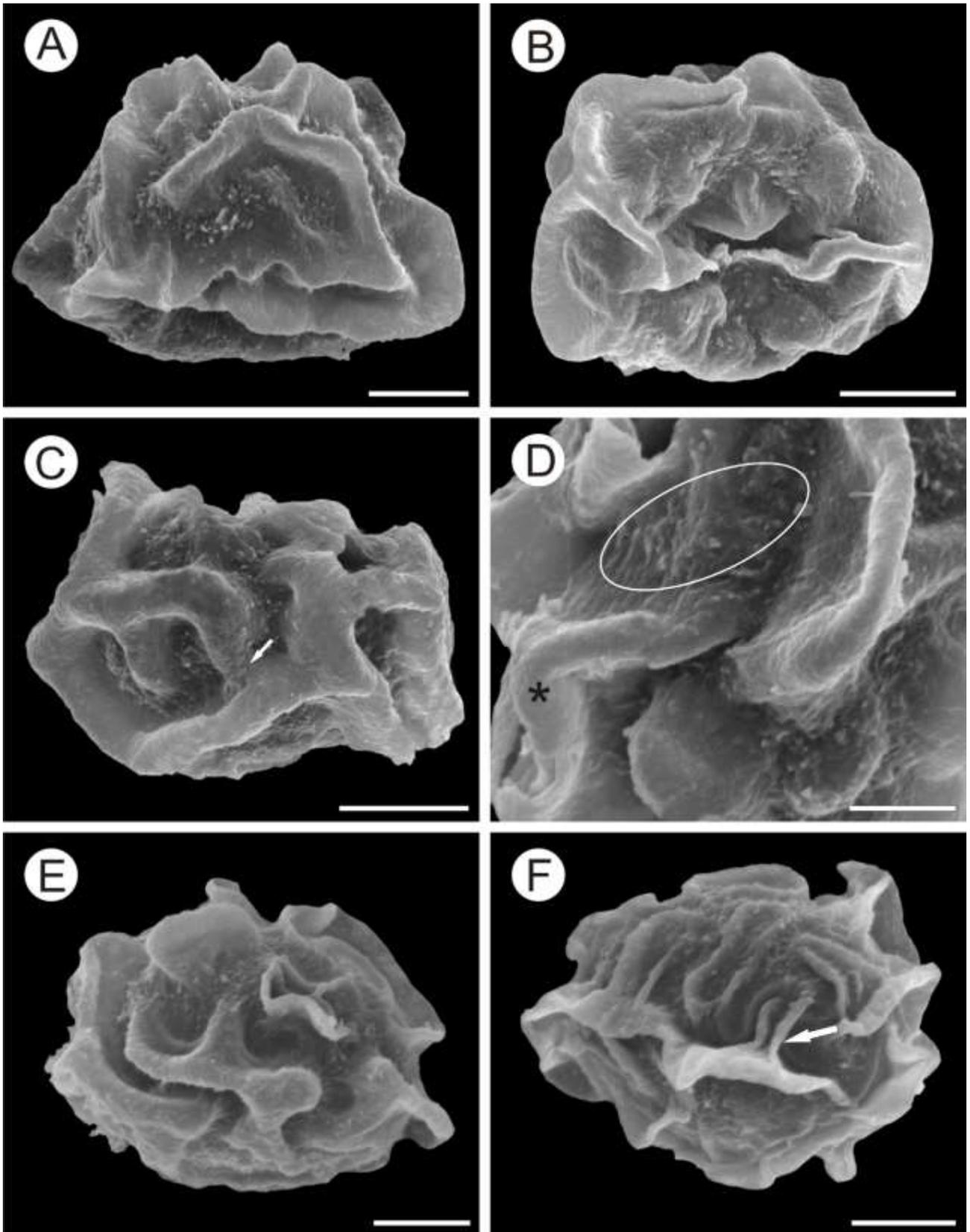


Figura 24. Esporas de *C. nervata* y *C. paranaensis* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 24. A-D: *C. nervata*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues lineares y alargados. **B)** Espora en vista proximal con algunos pliegues cortos y otros alargados. **C)** Espora en vista distal con pliegues groseros, lineares y parcialmente fusionados, formando aréolas incompletas (flecha). **D)** Superficie del perisporio escabrada (círculo) entre pliegues y finamente escabrada/psilada (asterisco) en los pliegues. **E-F: *C. paranaensis*:** **E)** Espora en vista ecuatorial con pliegues principalmente alargados, algunos angostos y otros groseros. **F)** Espora en vista proximal con pliegues lineares y angostos. Se observan pliegues asociados a la lesura (flecha).

Escala de las barras: **A-C; E-F:** 10 μm ; **D:** 5 μm .

3.1.12. *Ctenitis paranaensis* (Figuras 24E-F; 27A-C; 28A-C)

Descripción general del esporofito: puede ser reconocida por el raquis y costa abaxialmente con escamas marrón oscuro a negruzcas, enteras a ligeramente denticuladas, tricomas catenados dispersos abaxialmente en la costa y superficie laminar entre venas y en el indusio.

Hábitat: terrestre, endémico de las selvas umbrófilas, 5-1600 m.

Distribución: noreste a sur de Brasil.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes, Simetría bilateral, Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano-convexo a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 31,5 (38,4) 44 μm , el diámetro ecuatorial menor de 24,5 (29) 34,3 μm , el diámetro polar 24,5 (27,7) 34,3 μm . La lesura es de 14,4 (22,1) 24,5 μm de largo. Se observan pliegues asociados a la lesura (Fig. 24, F). Exosporio liso de 0,5-0,6 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues lineares y angostos (Fig. 27, C), subglobosos (Figs. 24, E; 27, A), o ramificados en forma de Y (Fig. 28, A), de 5,3-18,9 μm de largo, de 1-4 μm de ancho y 1,7-4,7 μm de alto. Superficie del perisporio escabrada (Fig. 28, B).

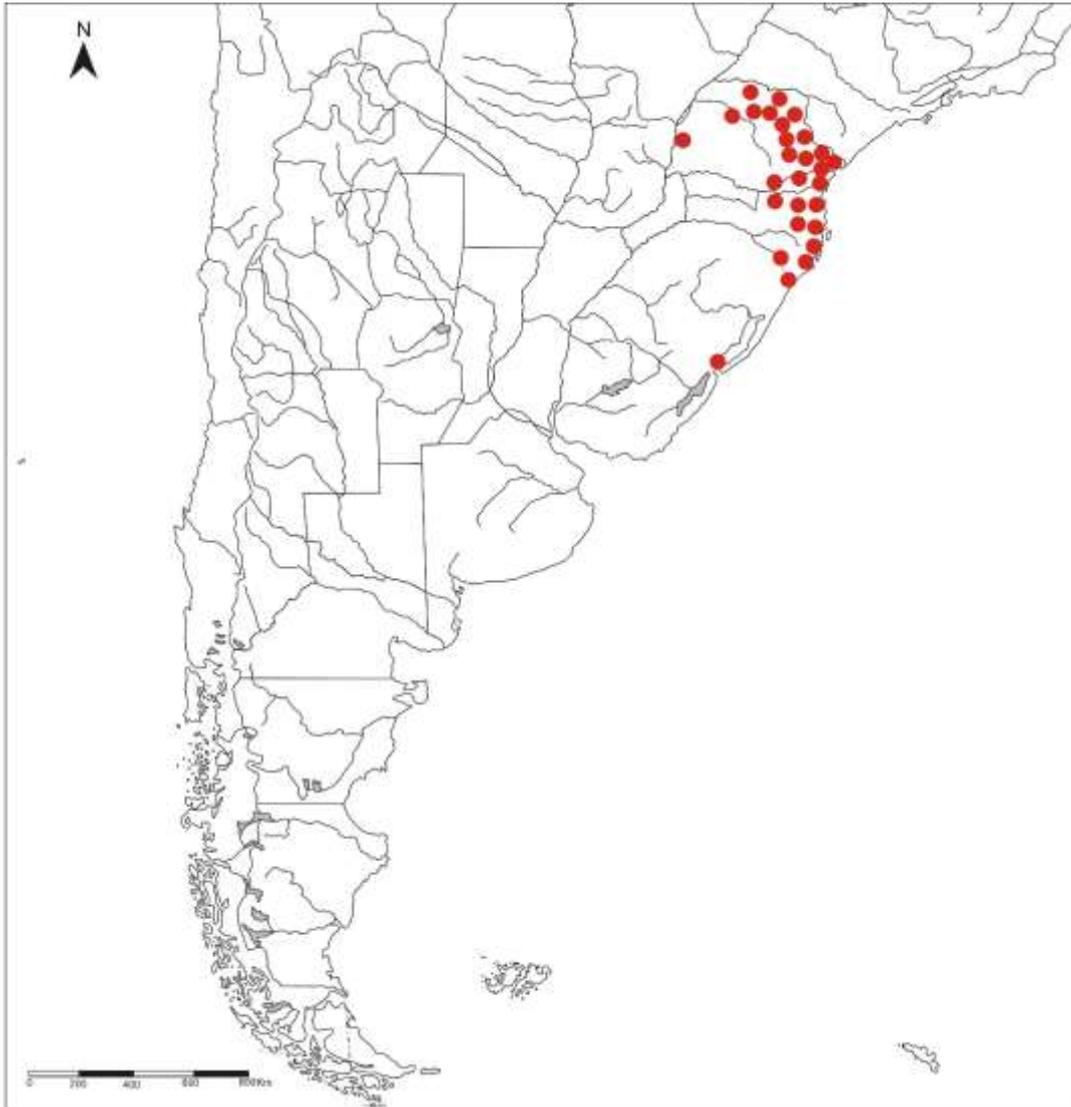


Figura 25. Distribución de *C. paranaensis* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

3.1.13. *Ctenitis submarginalis* (Figuras 27D-F; 28D-H)

Descripción del esporofito: es la especie de *Ctenitis* más ampliamente distribuida, creciendo en diferentes formaciones boscosas en un amplio rango de altitudes, lo que no sorprende entonces es su gran variación morfológica, pero puede ser reconocida por las escamas lanceoladas con base cordada en la costa abaxialmente.

Hábitat: terrestre en selvas umbrófilas densas o bosques estacionales semidecíduos, en pendientes rocosas, 50-1600 m.

Distribución: Estados Unidos (Florida y Lousiana), México, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Hispaniola, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Paraguay, Brasil, Uruguay y en Argentina, en Corrientes, Chaco, Entre Ríos, Santa Fe, Formosa, Jujuy, Salta, Tucumán, Misiones y Buenos Aires.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 28 (37,5) 49 μm , el diámetro ecuatorial menor de 23,6 (29,2) 43,1 μm , el diámetro polar 21 (28,5) 44,1 μm . La lesura es de 11,2 (22,1) 43,4 μm de largo. Se observan pliegues asociados a la lesura (Fig. 28, E). Exosporio liso de 0,6-0,7 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues cortos, subglobosos, redondeados (Fig. 27, E), irregularmente distribuidos (Figs. 27, D; 28, F), en forma de asa (Figs. 27, F; 28, D), de 2,2-8,5 μm de largo, 2,6-5,5 μm de ancho y 1,6-5 μm de alto. Superficie del perisporio escabrada entre pliegues, volviéndose finamente escabrada a psilada en los pliegues (Fig. 28, H).

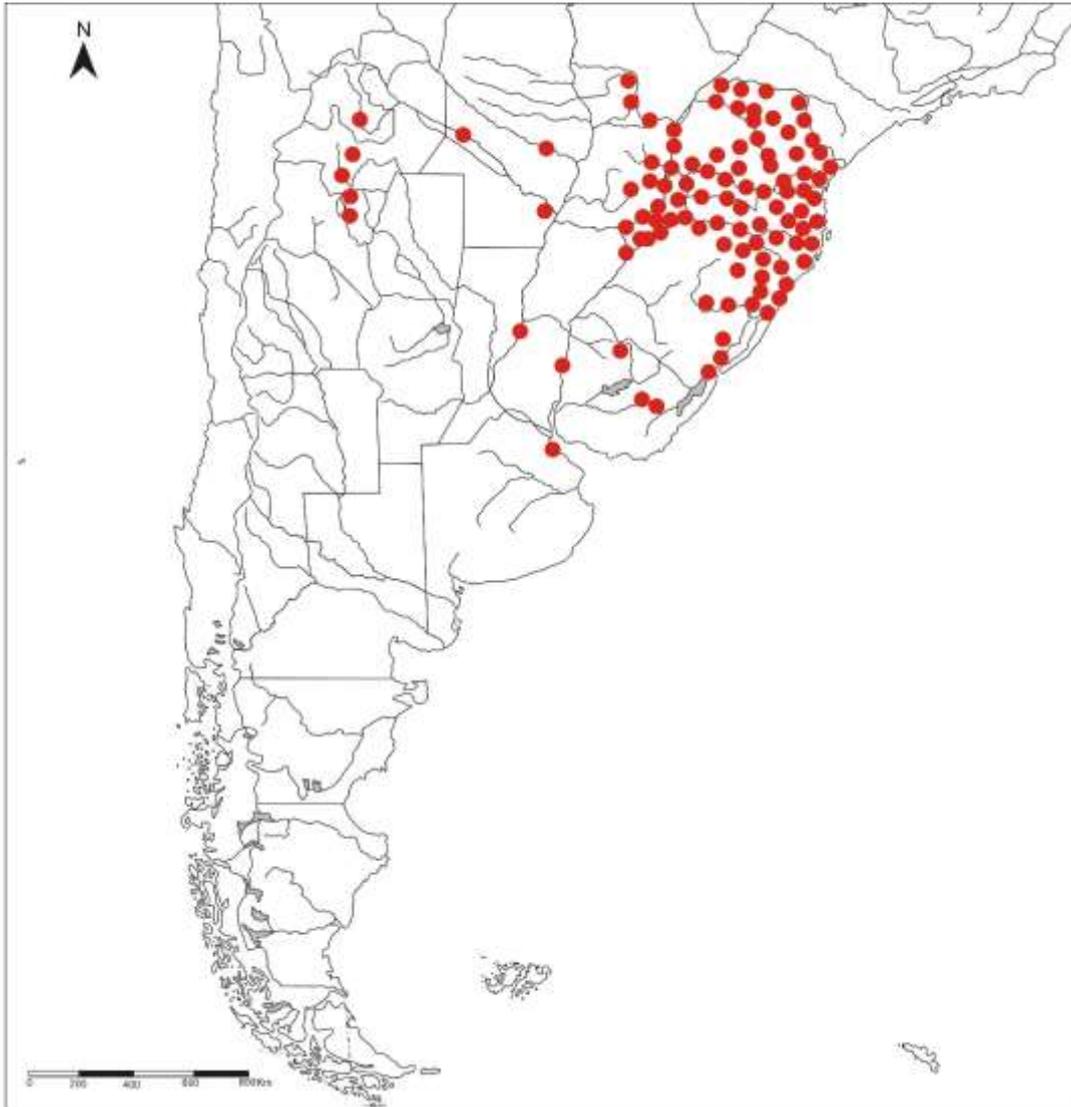


Figura 26. Distribución de *C. submarginalis* en el Cono Sur de América (extraído y modificado de Viveros et al., 2018).

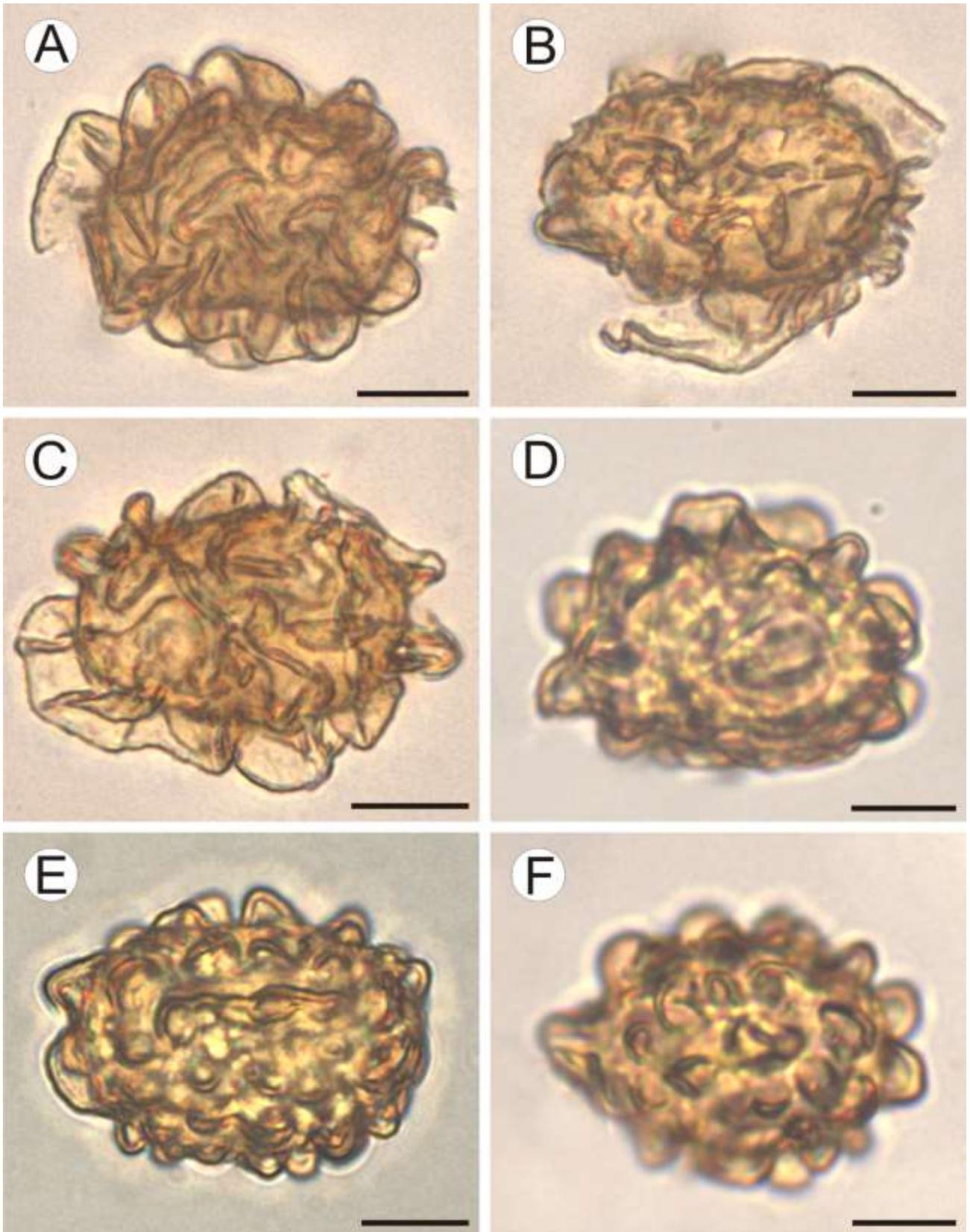


Figura 27. Esporas de *C. paranaensis* y *C. submarginalis* del Cono Sur de América con MO.

Figura 27. A-C: *C. paranaensis*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues cortos e inflados, subglobosos. **B)** Espora en vista proximal con pliegues delgados y alargados. **C)** Espora en vista distal con pliegues lineares y alargados. **D-F: *C. submarginalis*:** **D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues inflados, cortos y subglobosos. **E)** Espora en vista proximal con pliegues redondeados, algunos con forma de asa y en su mayoría inflados. **F)** Espora en vista distal con pliegues cortos, inflados y subglobosos.

Escala de las barras: **A-F:** 10 μm .

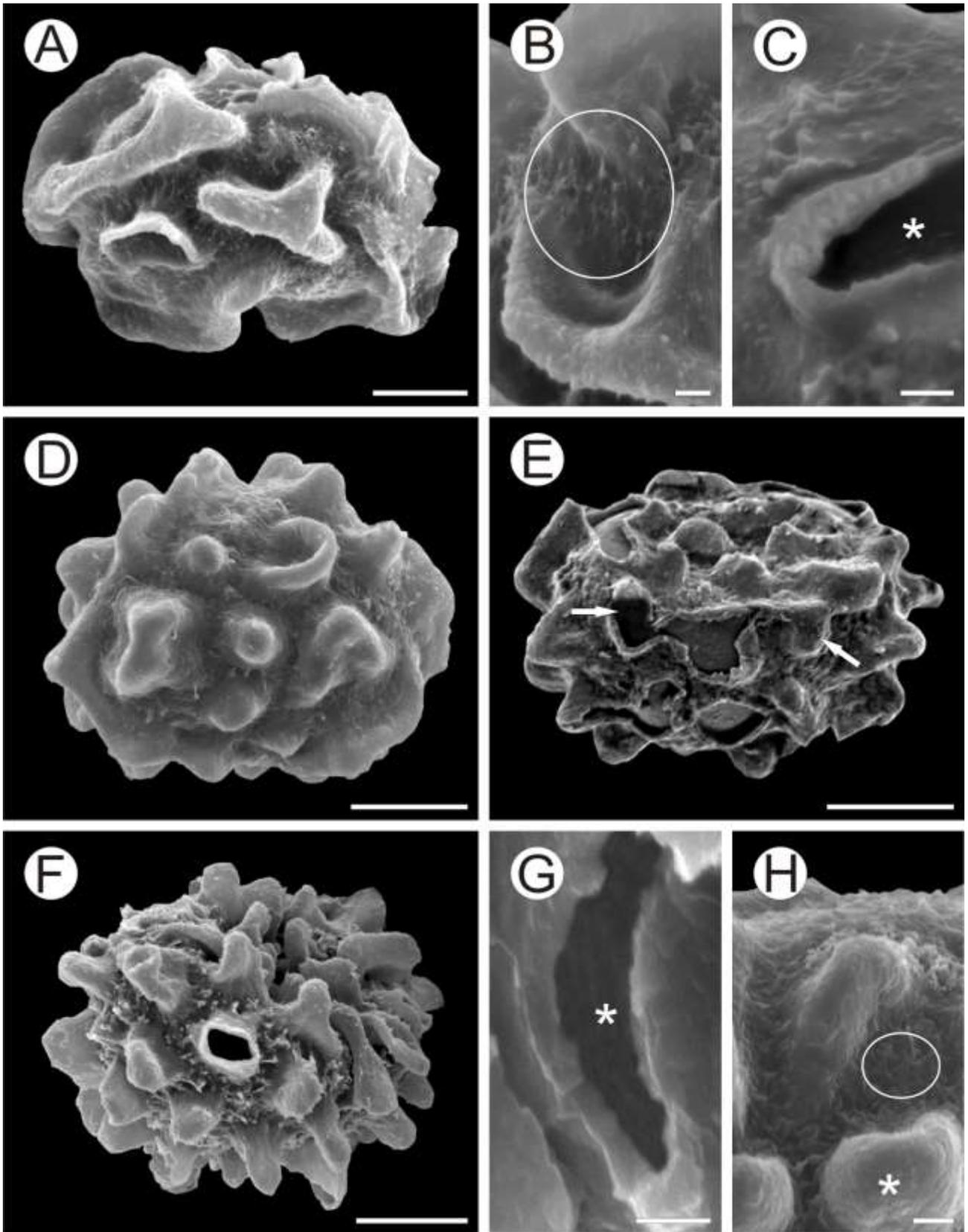


Figura 28. Esporas de *C. paranaensis* y *C. submarginalis* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 28. A-C: *C. paranaensis*: **A)** Espora en vista distal con pliegues inflados y ramificados en forma de Y. **B)** Superficie del perisporio finamente escabrada (círculo). **C)** Fractura del esporoderma. La parte basal de un pliegue (asterisco) es observado. **D-H: *C. submarginalis*:** **D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues cortos, inflados, subglobosos, en forma de asa o subcónicos. **E)** Espora en vista proximal con pliegues cortos, subglobosos y pliegues asociados a la lesura (flechas). Algunos están rotos evidenciando la cavidad central. **F)** Espora en vista distal con pliegues cortos, más altos que anchos. **G)** Fractura del esporoderma, la parte basal del pliegue es observado (asterisco). **H)** Superficie del perisporio escabrada (círculo) entre pliegues, volviéndose finamente escabrada a psilada (asterisco) en los pliegues.

Escala de las barras: **A; D-F:** 10 μm ; **B; H:** 2 μm ; **C; G:** 1 μm .

3.2. GÉNERO *DRYOPTERIS*

3.2.1. *Dryopteris dilatata* (Figuras 31A-C; 32A-E)

Descripción general del esporofito: es una especie que puede ser reconocida por las escamas del rizoma y el pecíolo que son de color marrón en los bordes y poseen una parte central negruzca o más oscura, además la lámina es ligeramente coriácea, 3-4-pinnado-pinnatífida y de color verde oliva a verde azulado.

Hábitat: en bosques y matorrales, praderas sombreadas y brezales, en los márgenes de pantanos, en setos, muros de piedra, bordes de canteras, acantilados marinos, en grietas de rocas y bloques de rocas y salientes de acantilados montanos, aunque es más común en montañas de 1700-2200 m.

Distribución: se distribuye por toda Europa y Estados Unidos. En Argentina es una especie introducida en el Noroeste de la Isla Gran Malvina.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano a convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 36,7 (52,5) 59,5 μm , el diámetro ecuatorial menor de 28 (31,6) 36,7, el diámetro polar 28 (33,7) 36,75 μm . La lesura es de 17,5 (27) 35 μm de largo. Exosporio liso de 0,3-0,6 μm . Perisporio con escultura rugada, formada principalmente por pliegues alargados (Fig. 31, A) y algunos subglobosos (Fig. 32, C), de 7,5-21,4 μm de largo, 1,5-3,4 μm de ancho y 3-5,4 μm de alto. Superficie del perisporio equinulada (Figs. 31, C; 32, B), las espínulas son de 0,45-1,66 μm de alto y 0,27-0,56 de ancho en su base, macizas, de bases coalescentes o no y ápice agudo (Fig. 32, E), están distribuidas por toda la superficie de la espora sin un patrón definido. Algunas perforaciones son visibles en la superficie del perisporio (Fig. 32, D).

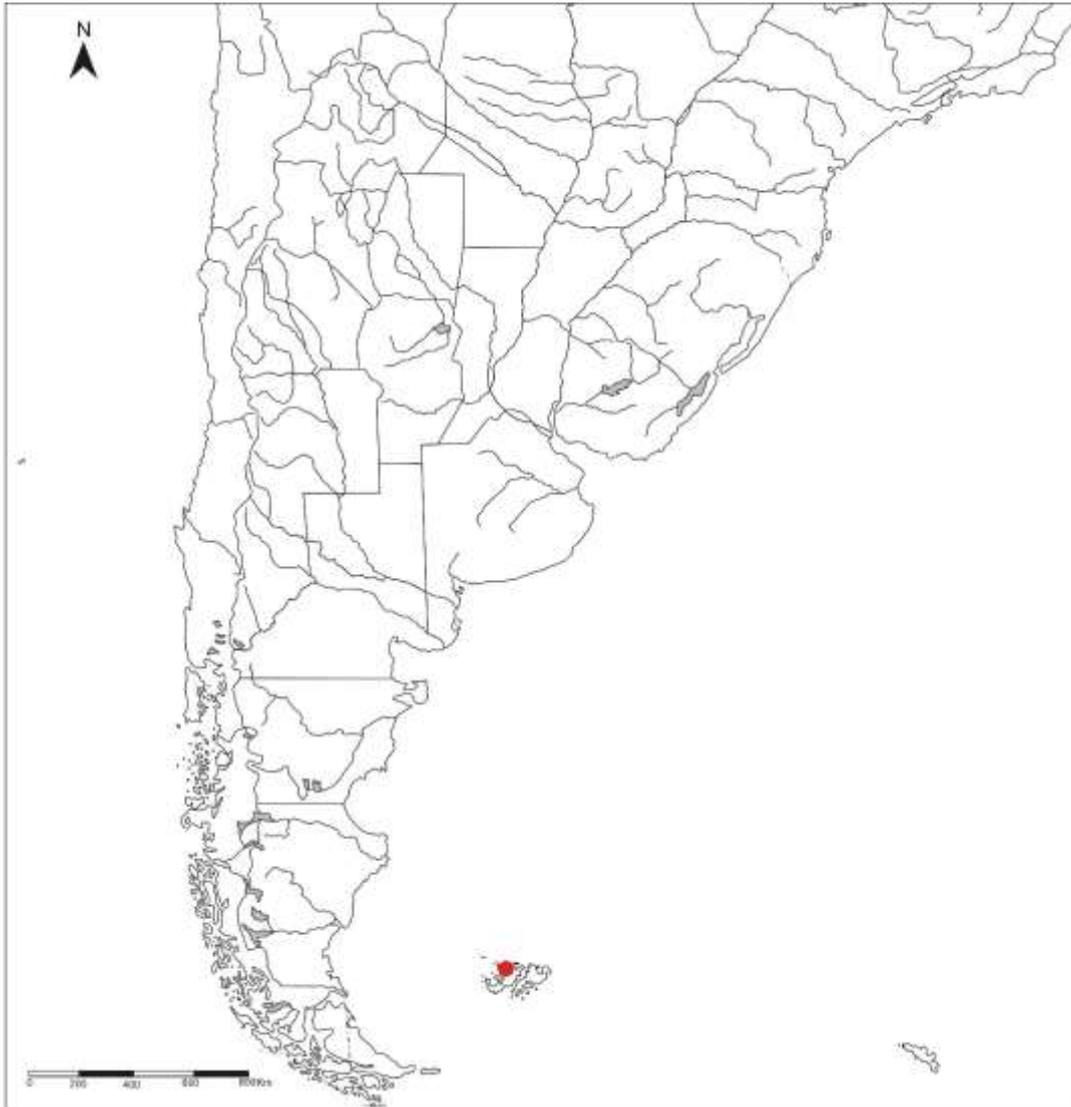


Figura 29. Distribución de *D. dilatata* en el Cono Sur de América.

3.2.2. *Dryopteris filix-mas* (Figuras 31D-F; 32F-J)

Descripción general del esporofito: es una especie que se puede reconocer por su lámina papirácea o herbácea, verde o verde claro, 2-pinnatífida, con soros en la mitad superior de la lámina y un indusio orbicular-reniforme fijo por el seno.

Hábitat: en bosques de coníferas, bordes de ríos y roquedales sombríos y húmedos entre los 100-3900 m.

Distribución: en el Hemisferio Norte. India, Kazajistán, Pakistán, Rusia (oeste de Siberia), noreste de Afganistán, norte de Irán, Europa y Norteamérica. En Argentina fue introducida y crece en bosques de *Nothofagus domeyi* (Mirb.) Oerst. asociado a *Azara lanceolata* Hook. f. en el sur de Neuquén.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón verdoso. Contorno en vista ecuatorial plano a ligeramente cóncavo-convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 43,7 (50,6) 63 μm , el diámetro ecuatorial menor de 29,7 (34,5) 40,2 μm , el diámetro polar 28 (33,6) 45,5 μm . La lesura es de 31,5 (34,9) 42 μm de largo. Exosporio liso de 0,7-1,3 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues cortos, inflados, subglobosos (Figs. 31, D), irregularmente distribuidos, lineares (Fig. 32, H), de 3,8-27 μm de largo, 3,1-6,9 μm de ancho y 2,3-5,6 μm de alto. En vista ecuatorial, grandes pliegues son observados en los bordes, mientras que en vista polar proximal (Figs. 32, F, G) estos pliegues se ven asociados con la lesura. Superficie del perisporio reticulada con pequeñas rúgulas bajas que se fusionan, parcial o totalmente formando retículos irregulares (Fig. 32, I).

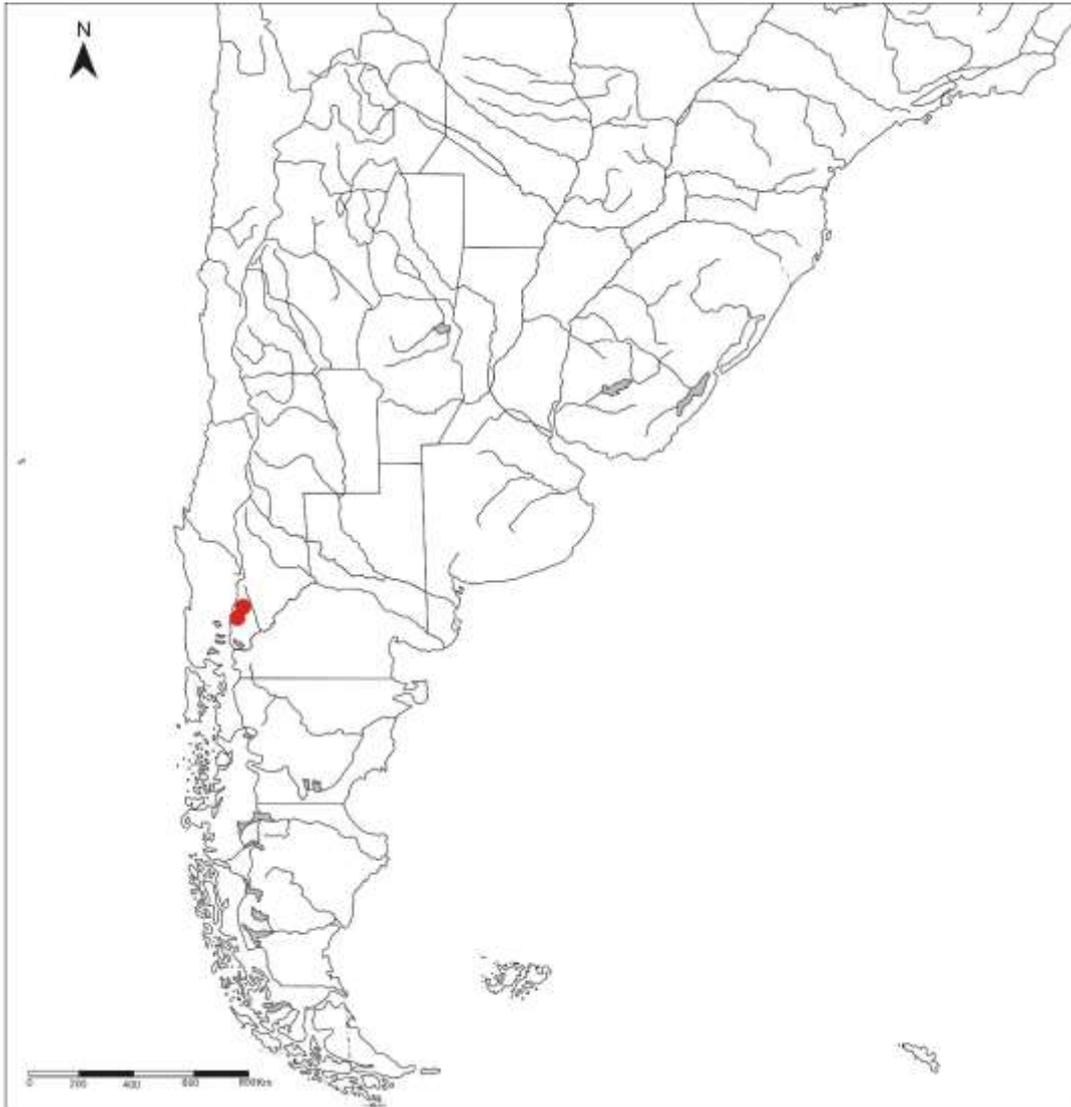


Figura 30. Distribución de *D. filix mas* en el Cono Sur de América.

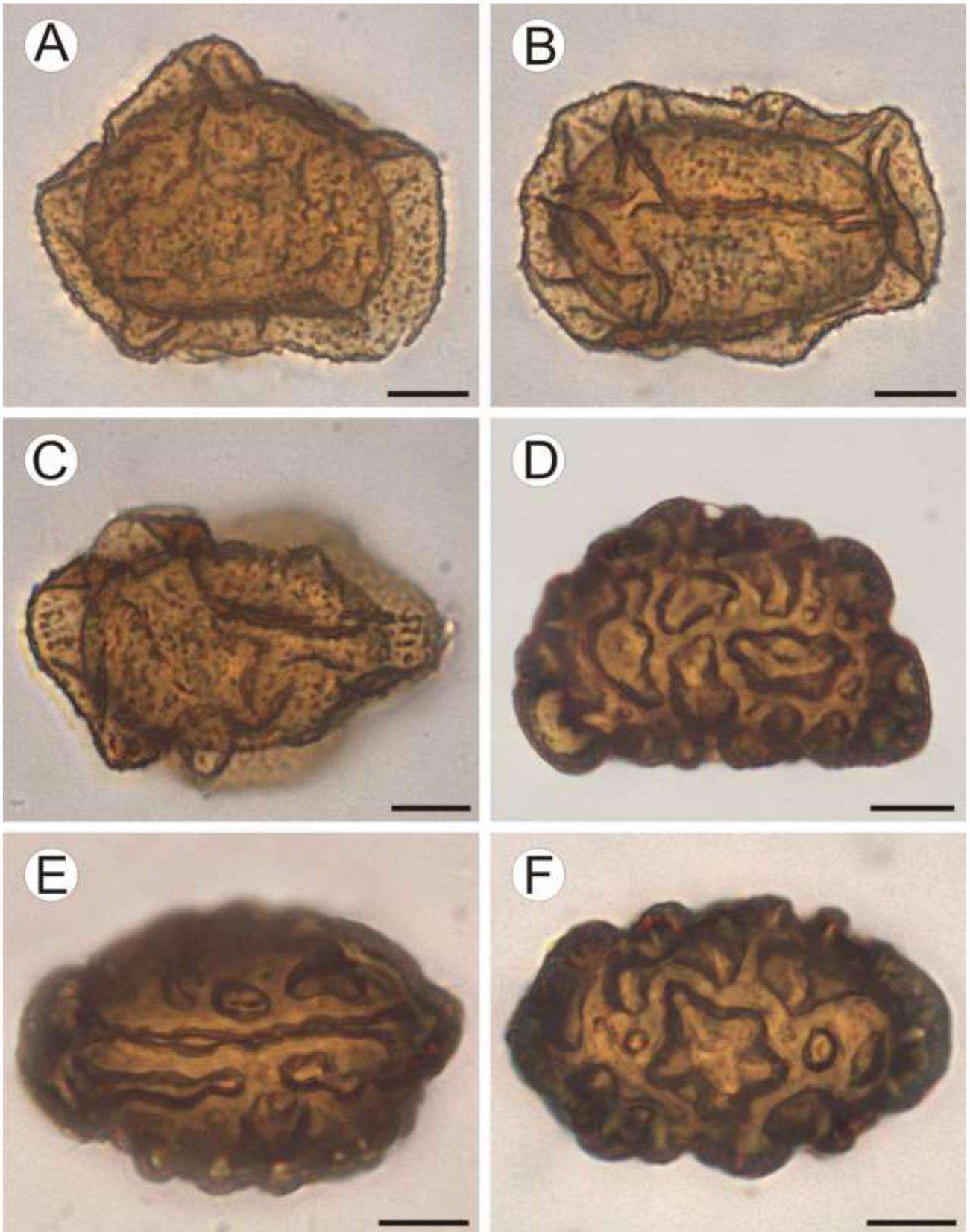


Figura 31. Esporas de *D. dilatata* y *D. filix-mas* del Cono Sur de América con MO.

Figura 31. A-C: *D. dilatata*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues alargados y una superficie equinulada. **B)** Espora en vista proximal con pliegues altos y bajos, alargados. La superficie es equinulada. **C)** Espora en vista distal con pliegues principalmente alargados y una superficie cubierta de espínulas. **D-F: *D. filix-mas*:** **D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues cortos, subglobosos, inflados. **E)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos, irregulares, redondeados y alargados. **F)** Espora en vista distal con pliegues inflados, subglobosos, cortos y otros con forma estrellada.

Escala de las barras: **A-F:** 10 μm .

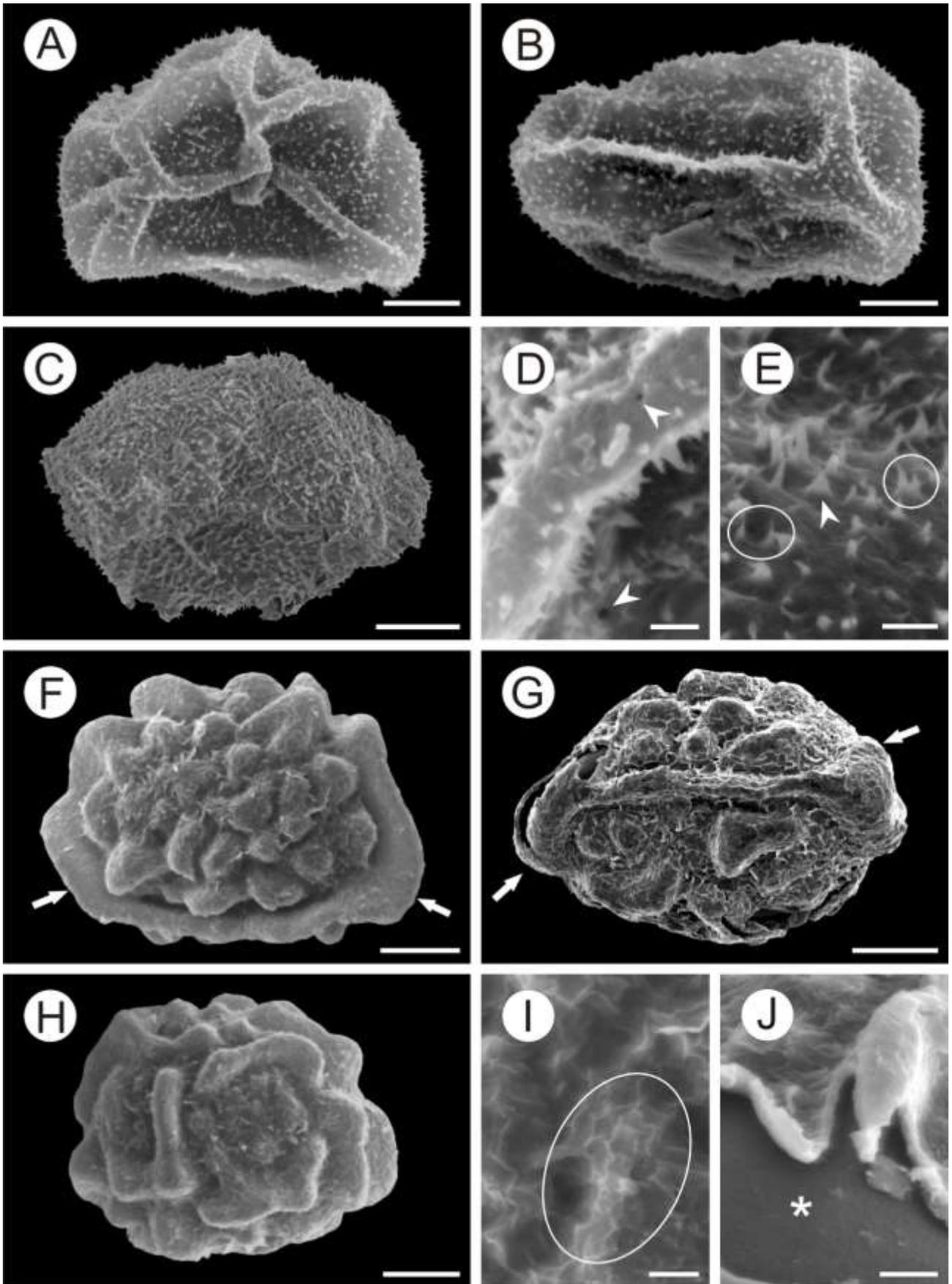


Figura 32. Esporas de *D. dilatata* y *D. filix-mass* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 32. A-E: *D. dilatata*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues alargados y conectados formando un retículo incompleto. Pequeñas espínulas conforman la superficie del perisporio. **B)** Espora en vista proximal. Unos pocos pliegues alargados son observados. **C)** Espora en vista distal con pliegues subglobosos y cortos. La superficie está cubierta de espínulas. **D)** Detalle de la superficie del perisporio, con pequeñas perforaciones (cabeza de flecha). **E)** Detalle de las espínulas, con base coalescente (círculos) y solitarias (cabeza de flecha). **F-J: *D. filix-mas*:** **F)** Espora en vista ecuatorial con pliegues cortos, subglobosos e inflados en el cuerpo de la espora y pliegues alargados en los bordes (flechas). **G)** Espora en vista proximal con pliegues subglobosos, cortos y robustos. Se observan pliegues asociados a la lesura (flechas). **H)** Espora en vista distal. Pliegues lineares y alargados, algunos parcialmente fusionados. **I)** Superficie rugulada del perisporio formada por pequeñas rúgulas que forman retículos completos e incompletos (círculo). **J)** Detalle de una fractura del esporoderma. Se observa la base del pliegue (asterisco).

Escala de las barras: **A-C; F-H:** 10 μm ; **D:** 2 μm ; **E; I-J:** 2,5 μm .

3.2.3. *Dryopteris patula* (Figuras 34A-D; 35A-F; 38A-D)

Descripción general del esporofito: esta especie es fácilmente reconocida por las escamas del rizoma y la base del pecíolo anaranjadas, una lámina 3-4-pinnado-pinnatífida, membranácea a cartácea, superficie laminar con tricomas capitados, soros redondeados con indusio orbicular o reniforme, fijo por el seno.

Hábitat: plantas terrestres, rupícolas o epífitas en bosques umbrófilos densos, en bosques montanos estacionales deciduos y de alta montaña entre rocas húmedas y laderas rocosas entre los 950- 2700 m.

Distribución: México, América Central, Grandes Antillas, Colombia, Venezuela, Ecuador, Bolivia, Perú, Paraguay, Brasil y en Argentina en Jujuy, Salta y Tucumán.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón oscuro. Contorno en vista ecuatorial plano a ligeramente cóncavo-convexo. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 40,2 (47,4) 54,2 μm , el diámetro ecuatorial menor es de 28 (34,2) 40,2 μm , el diámetro polar 29,7 (34,5) 39,4 μm . La lesura es de 17,5 (25,4) 32,4 μm de largo. Exosporio liso de 0,5-0,65 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues muy gruesos (Figs. 34, A; 35, D), largos, raramente cortos (Fig. 35, F), parcial a totalmente fusionados, formando retículos completos e incompletos (Figs. 34, C; 35, A), de 7,5-27 μm de largo, 4,9-9 μm de ancho y 3,2-9 μm de alto. Superficie del perisporio rugulada-foveolada, con pequeñas depresiones usualmente redondeadas (Figs 38, A, B). En algunas esporas se observaron cuerpos esféricos sobre la superficie del perisporio (Fig. 38, C).

Observaciones: se hallaron algunas esporas anómalas, globosas con pliegues apiñados y de color marrón brillante (Fig. 34, D).

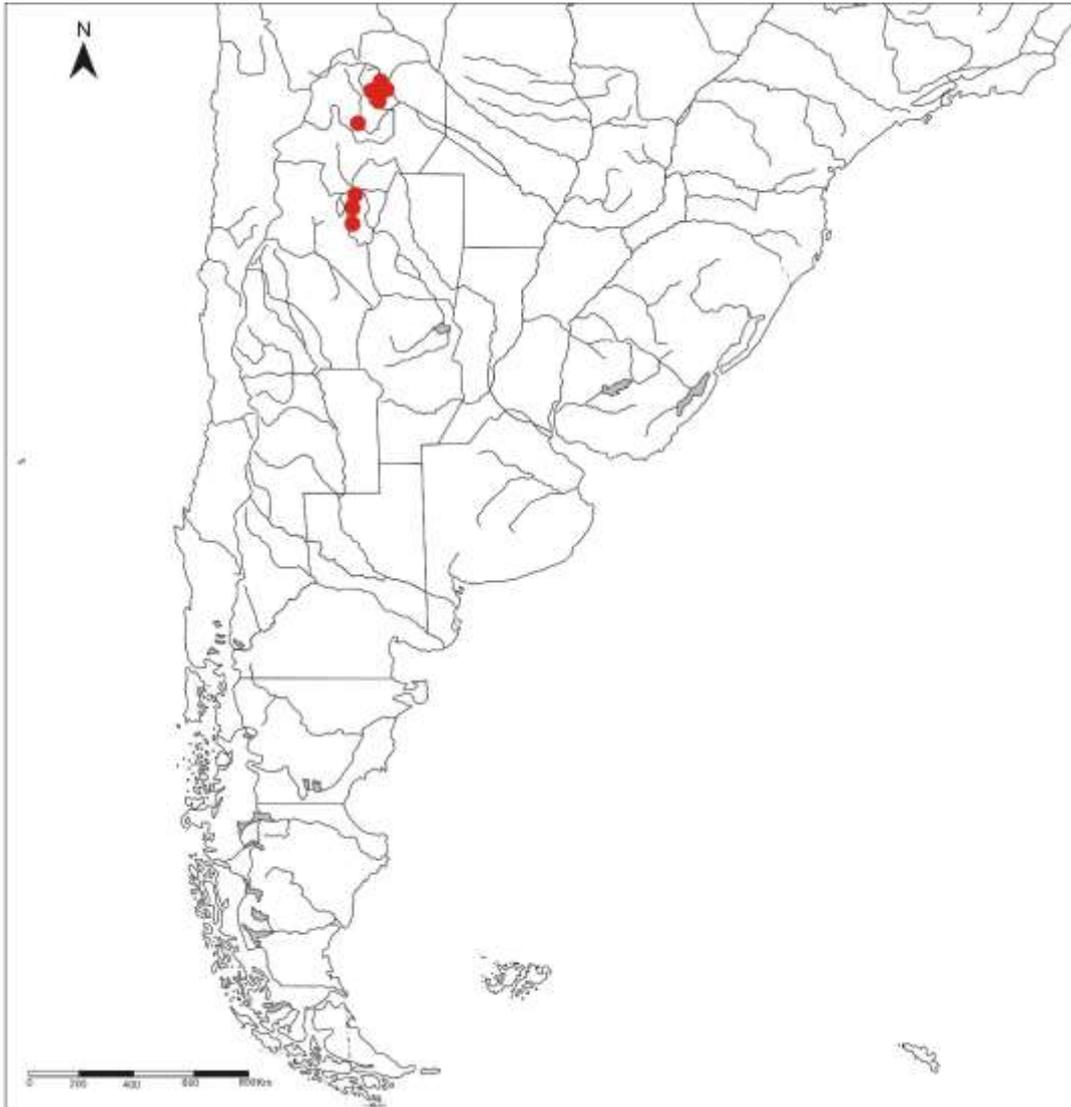


Figura 33. Distribución de *D. patula* en el Cono Sur de América.

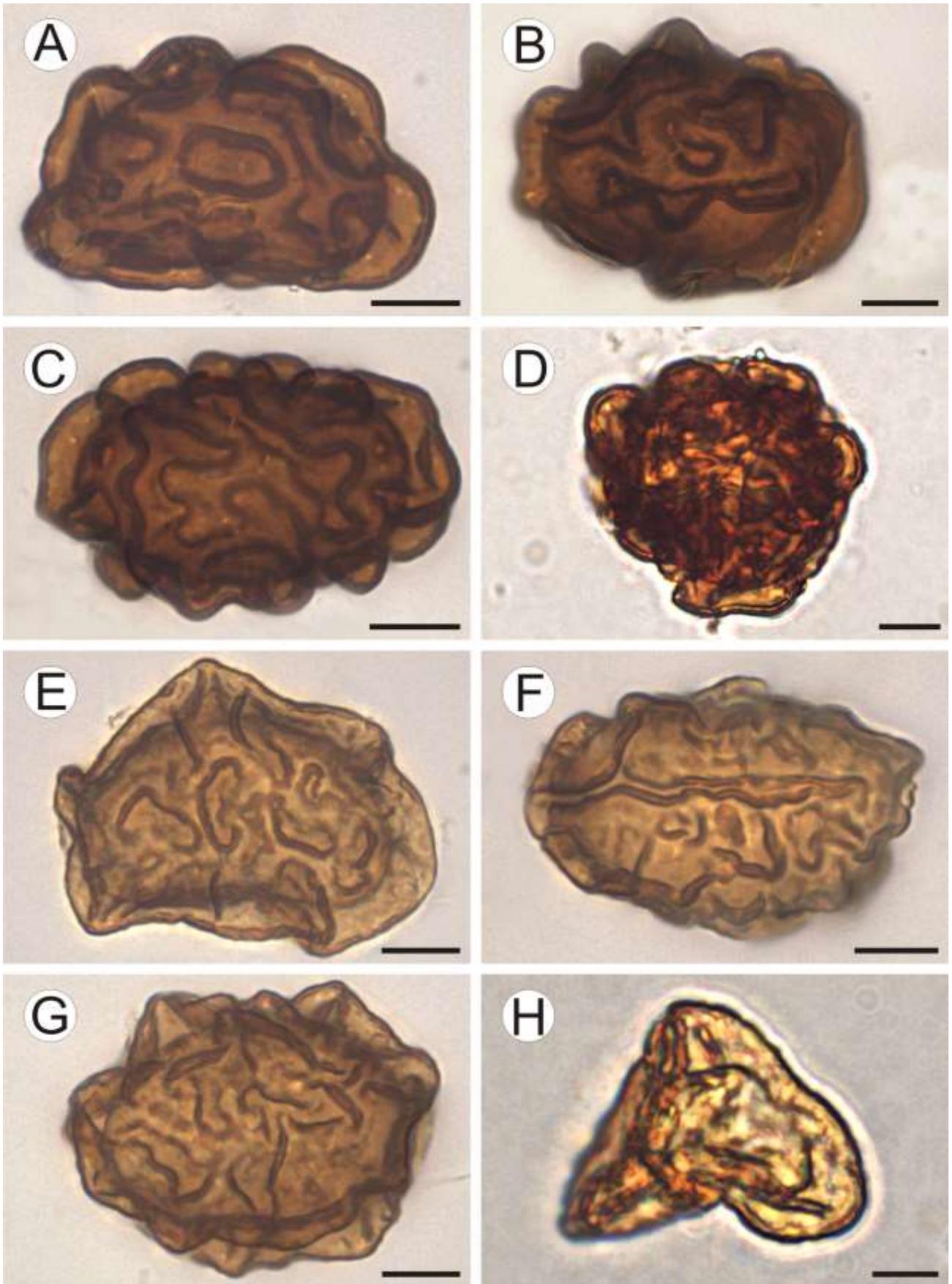


Figura 34. Esporas de *D. patula* y *D. wallichiana* del Cono Sur de América con MO.

Figura 34. A-D: *D. patula*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues groseros dispersos, algunos cortos y otros alargados. **B)** Espora en vista proximal con pliegues dispersos, cortos e irregulares. **C)** Espora en vista distal con pliegues groseros, cortos. **D)** Espora globosa, con pliegues apiñados y retorcidos. **E-H: *D. wallichiana*:** **E)** Espora en vista ecuatorial con pliegues cortos, groseros y delgados, rectos y sinuosos, en forma de C. **F)** Espora en vista proximal con pliegues cortos a alargados. **G)** Espora en vista distal con pliegues cortos y delgados. **H)** Espora triangular con pliegues groseros, altos y continuos. Escala de las barras: **A-H:** 10 μm .

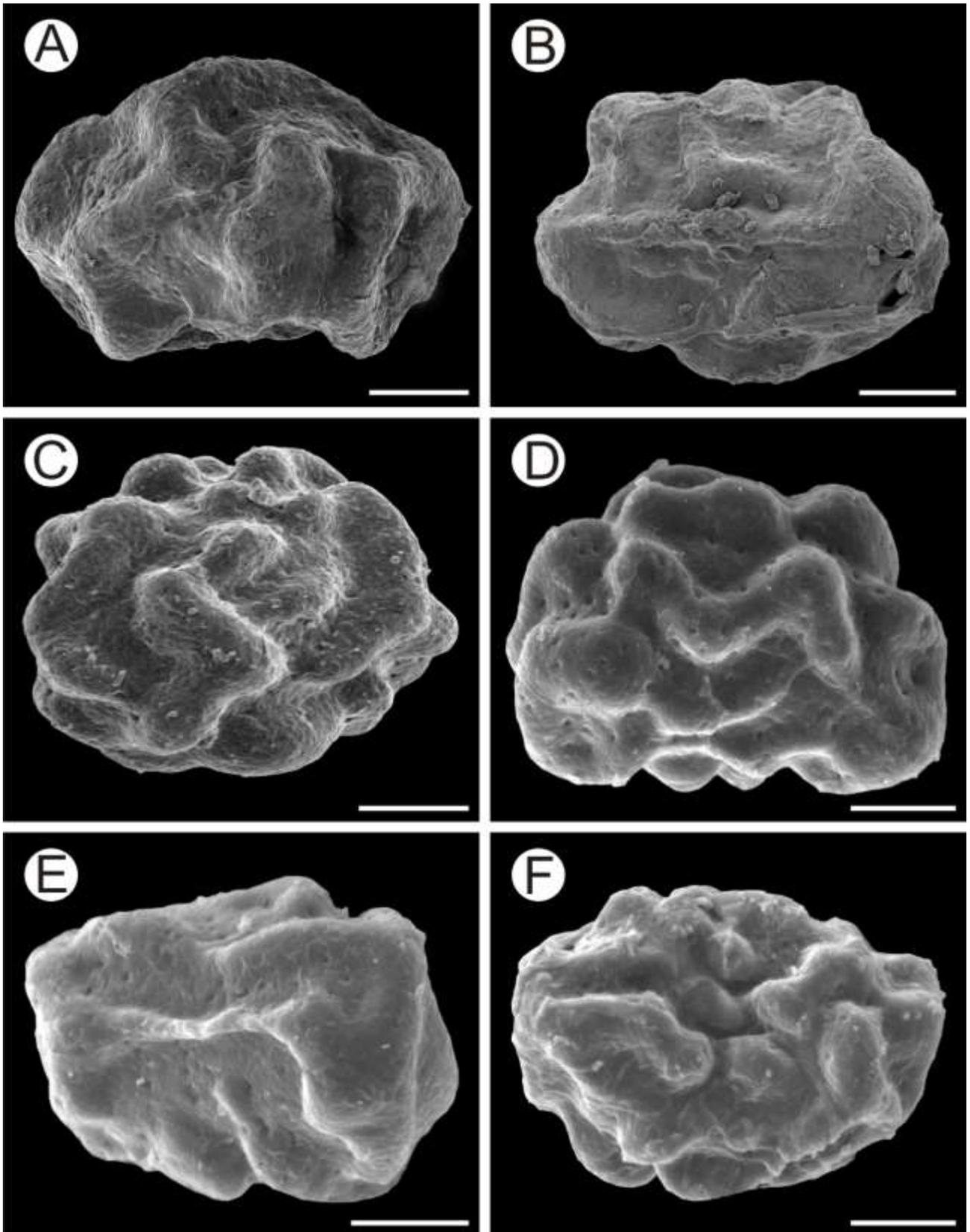


Figura 35. Esporas de *D. patula* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 35. A-F: *D. patula*: **A)** Espora en vista ecuatorial con pliegues dispersos, groseros, alargados. Superficie del perisporio rugulada. **B)** Espora en vista proximal con pliegues alargados y bajos. Superficie del perisporio rugulada. **C)** Espora en vista distal con pliegues sinuosos, groseros, principalmente alargados. Superficie del perisporio rugulada. **D)** Espora en vista ecuatorial con pliegues groseros, inflados, principalmente alargados. Superficie del perisporio rugulada-foveolada. **E)** Espora en vista proximal con pliegues groseros y superficie del perisporio rugulada-foveolada. **F)** Espora en vista distal con pliegues cortos e inflados y alargados y groseros. La superficie del perisporio es rugulada-foveolada.

Escala de las barras: **A-F:** 10 μm .

3.2.4. *Dryopteris wallichiana* (Figuras 34E-H; 37A-C; 38E-I)

Descripción general del esporofito: esta especie puede ser fácilmente reconocida por presentar una gran cantidad de escamas en los ejes y en toda la superficie laminar, no clatradas amarronadas a rojizas, una lámina 1-pinnado-pinnatífida, cartácea o coriácea, elíptico-lanceolada, de color verde oscuro en la cara adaxial y verde pálido en la cara abaxial, segmentos rectangulares con ápice truncado y de margen dentado, y un rizoma erecto que puede formar un tronco de hasta 20 cm.

Hábitat: plantas terrestres o rupícolas en bosques de *Tsuga* o *Picea*, en riberas húmedas y grietas en paredes de piedra. En Sudamérica habita bosques densos o matorrales, bosques disturbados, en quebradas húmedas, en orillas de caminos húmedos y sombreados y en la base de rocas, entre los 930-4000 m.

Distribución: sudeste de Asia, Japón, Taiwan, Filipinas, África, México, Hawai, Antillas Grandes, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Bolivia, Paraguay, Brasil (Minas Gerais, Paraná, Río de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina y São Paulo) y en Argentina en las provincias de Catamarca, Jujuy, Salta y Tucumán.

Descripción de las esporas: Esporas monoletes. Simetría bilateral. Color marrón o marrón claro. Contorno en vista ecuatorial plano a ligeramente cóncavo-convexo a ligeramente hemisférico. Contorno en vista polar elipsoidal. El diámetro ecuatorial mayor es de 38,9 (48,4) 57,3 μm , el diámetro ecuatorial menor de 27,1 (32,4) 37,2 μm , el diámetro polar 28,4 (34,5) 39,4 μm . La lesura es de 22,1 (28,22) 35,9 μm de largo. Exosporio liso de 0,9-1,1 μm . Perisporio con escultura rugada, formada por pliegues dispersos a compactos (Figs. 38, E, G), cortos y subglobosos (Fig. 38, F), lineares, sinuosos o ramificados en forma de Y o C (Figs. 34, E, G), a menudo fusionados parcial o totalmente formando retículos irregulares (Fig. 38, E), de 7-34 μm de largo, 4,1-7,7 μm de ancho y 2,2-6 μm de alto. Superficie del perisporio reticulada, con pequeñas rúgulas o microcrestas fusionadas parcial o totalmente formando retículos irregulares, completos e incompletos (Fig. 38, I), mientras que en otras ocasiones se aprecia la superficie del perisporio con pequeñas porciones desprendidas.

Observaciones: en varios especímenes de esta especie se han observado esporas anormales en cuanto a tamaño, color y morfología. Estas esporas pueden ser triangulares (Fig. 34, H), globosas (Fig. 37, C) o retorcidas (Fig. 37, A), pueden presentar color castaño oscuro o castaño muy claro y pueden ser pequeñas o grandes. Todas estas anomalías tienen en común que muestran pliegues más grandes que las típicas (Fig. 37, B).

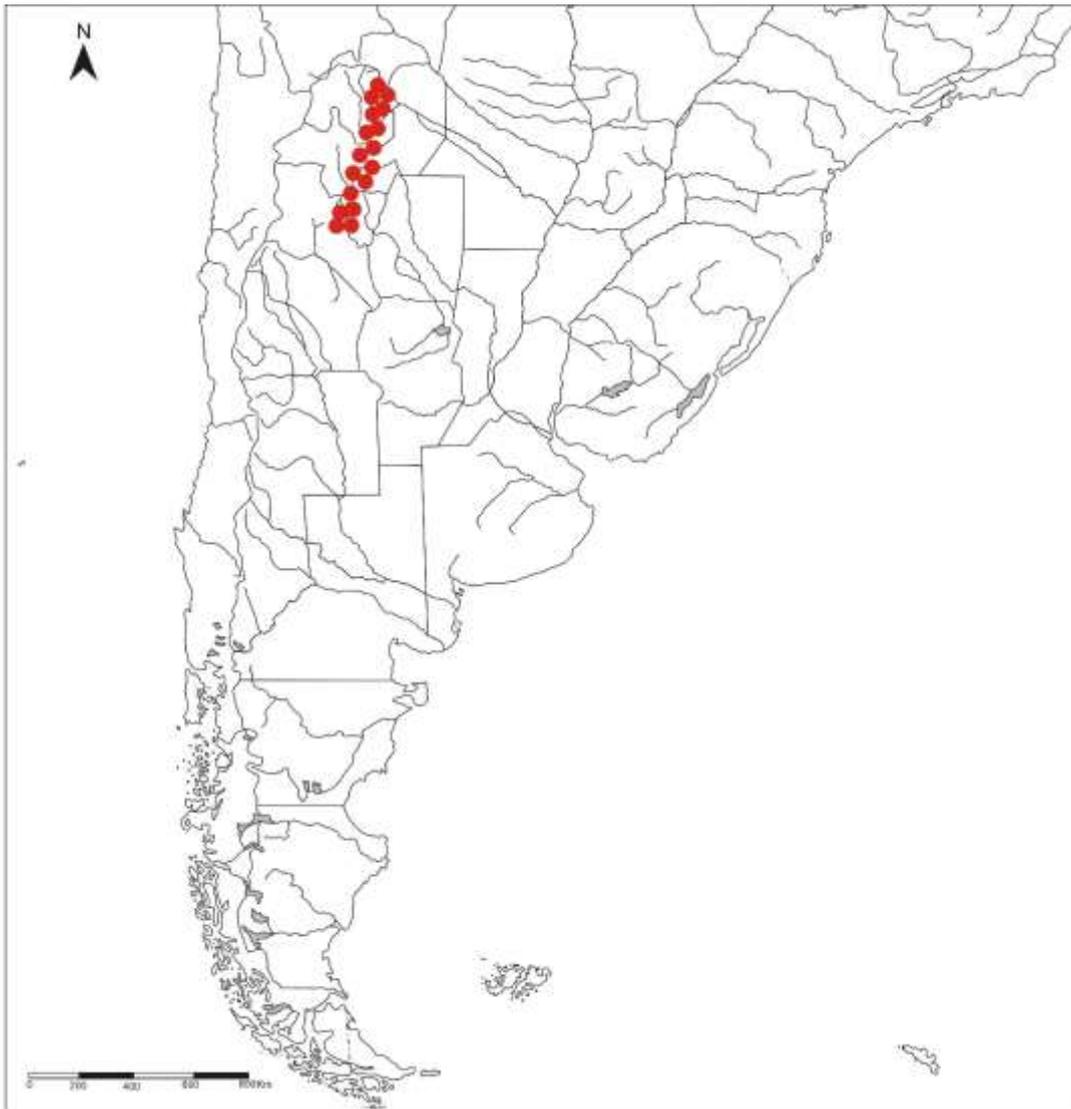


Figura 36. Distribución de *D. wallichiana* en el Cono Sur de América.

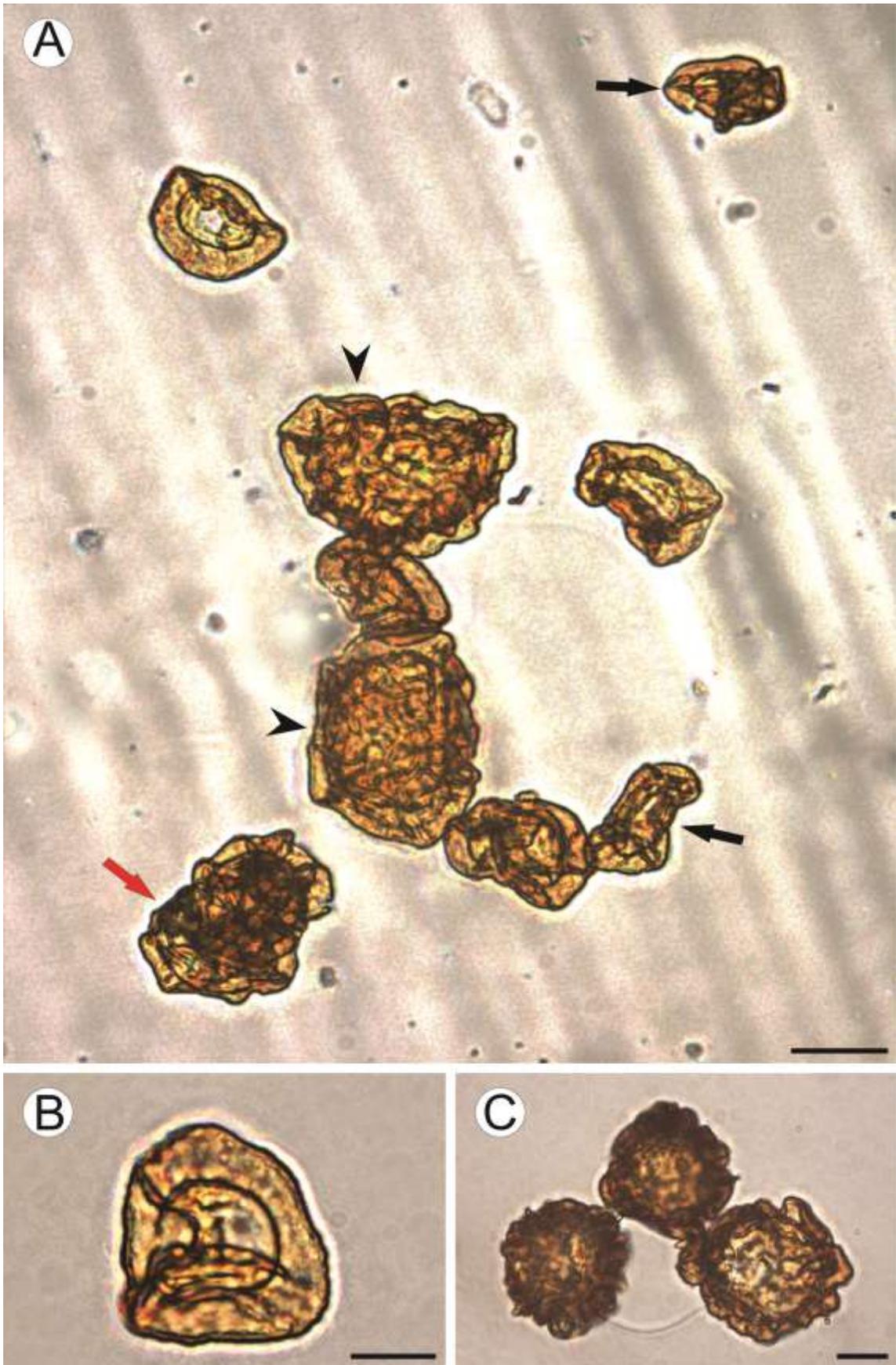


Figura 37. Esporas de *D. wallichiana* del Cono Sur de América con MO.

Figura 37. A-C: *D. wallichiana*: **A)** 3 tipos de esporas pueden apreciarse de acuerdo a su tamaño y variabilidad morfológica: 1) Esporas pequeñas y retorcidas con pliegues groseros casi tan anchos como el cuerpo de la espora (flechas negras); 2) Esporas medianas con pliegues groseros y compactos (flecha roja); y 3) Esporas de gran tamaño, con pliegues normales (cabezas de flecha). **B)** Espora globosa con pliegues groseros, casi tan anchos como la mitad del cuerpo de la espora. **C)** Esporas globosas, oscuras, con pliegues apiñados.

Escala de las barras: **A-C:** 20 μm .

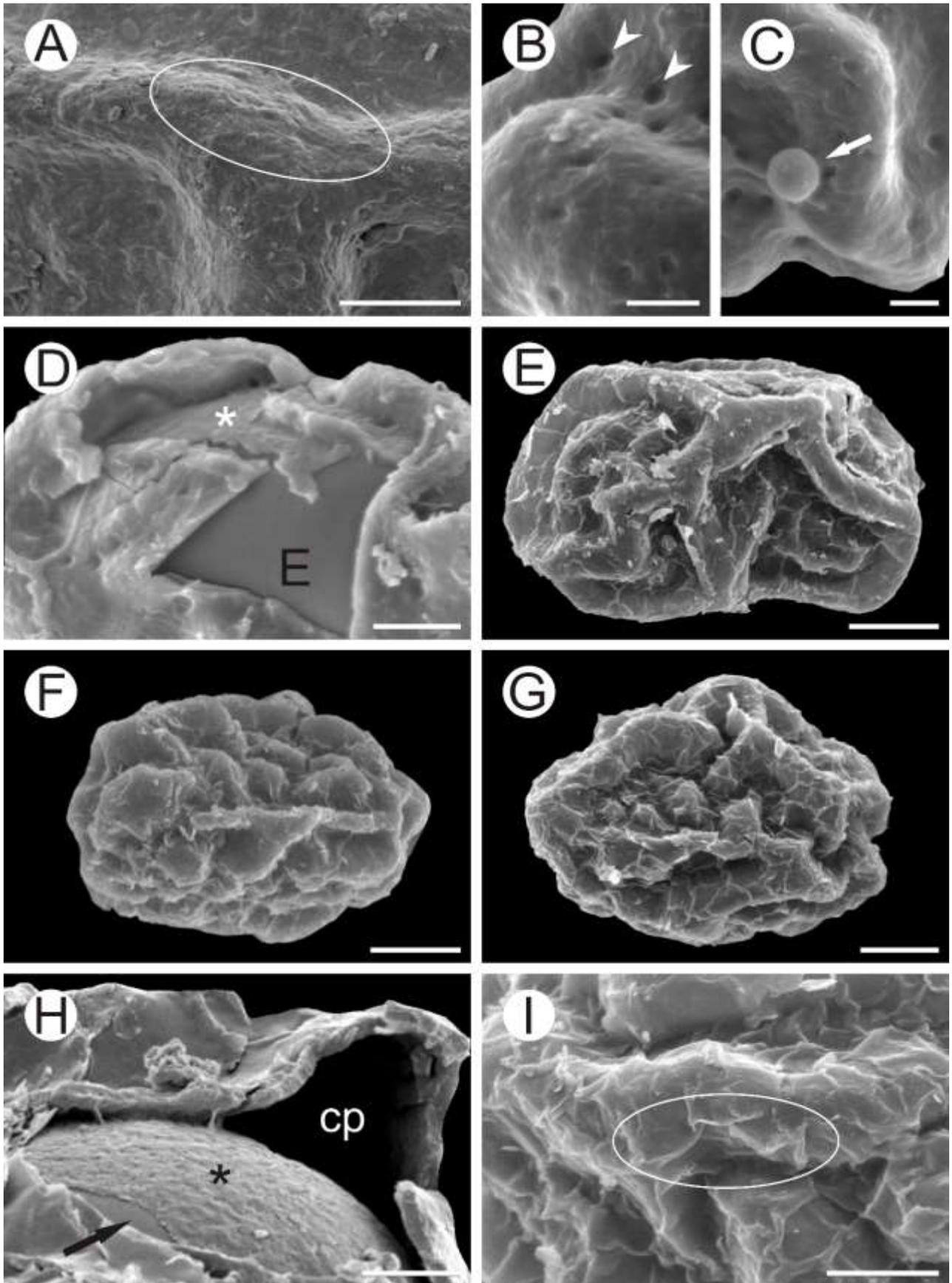


Figura 38. Esporas de *D. patula* y *D. wallichiana* del Cono Sur de América con MEB.

Figura 38. A-D: *D. patula*: **A)** Superficie del perisporio rugulada (círculo). **B)** Superficie del perisporio rugulada-foveolada, compuesta por pequeñas rúgulas y fóveas (cabezas de flecha). **C)** Una esférula es observada en la superficie del perisporio (flecha). **D)** Detalle de una fractura del esporoderma. Se observa el exosporio (E) y la parte basal del pliegue (asterisco). **E-I: *D. wallichiana*:** **E)** Espora en vista ecuatorial con pliegues principalmente alargados, groseros, formando aréolas completas e incompletas. **F)** Espora en vista proximal con pliegues cortos, subglobosos e inflados. **G)** Espora en vista distal con pliegues cortos y pequeños, y otros alargados. **H)** Detalle de la fractura del esporoderma. Se observan el exosporio (flecha), la parte basal del pliegue que lo recubre (asterisco) y la cavidad del pliegue (cp). **I)** Superficie del perisporio rugulada, compuesta de pequeñas rúgulas (círculo) que pueden formar retículos completos o incompletos.

Escala de las barras: **B-C; H:** 2,5 μm ; **A; D; I:** 5 μm ; **E-G:** 10 μm .

Especie	Diámetro ecuatorial mayor	Diámetro ecuatorial menor	Diámetro polar	Lesura
<i>C. ampla</i>	35 (41,9) 49	28 (36,1) 42	28 (32,7) 38	28 (12,9) 19,3
<i>C. anniesii</i>	30,8 (39) 45,5	24,5 (29,2) 38,5	24 (29,2) 35	24 (22,4) 30,8
<i>C. aspidioides</i>	35 (43,4) 45,5	24,9 (32,5) 41,3	26,9 (32,7) 42	26,9 (27,9) 35
<i>C. bigarellae</i>	32,2 (39,7) 49	25,2 (30,2) 37,8	23,8 (28,6) 32,2	23,8 (23,2) 30,8
<i>C. deflexa</i>	28,7 (34,7) 39,2	17,5 (23,9) 28	18,2 (23,9) 28	18,2 (18) 28
<i>C. distans</i>	31,1 (37,2) 42	23,8 (28,9) 36,4	21 (27,8) 33,6	21 (22,9) 28
<i>C. eriocaulis</i>	33,6 (37,4) 42	23,8 (29,8) 32,2	26,6 (29) 33,6	26,6 (15,7) 16,8
<i>C. falciculata</i>	30,8 (37,9) 49,3	22,4 (28,8) 37,1	18,9 (28,8) 37,8	18,9 (22,5) 35
<i>C. fenestralis</i>	28 (33,9) 44,8	14,7 (21,4) 26,3	21 (26,4) 38,5	21 (20,5) 30,8
<i>C. nervata</i>	35 (42,6) 50,4	26,3 (30,4) 35,7	23,8 (30,1) 36,4	23,8 (27,6) 40,6
<i>C. paranaensis</i>	31,5 (38,4) 44	24,5 (29) 34,3	24,5 (27,7) 34,3	24,5 (22,1) 24,5
<i>C. submarginalis</i>	28 (37,5) 49	23,6 (29,2) 43,1	21 (28,5) 44,1	21(22,1) 43,4

TABLA 1. Datos cuantitativos de las esporas de las especies de *Ctenitis* en el Cono Sur de América. Medidas en μm . Mín.: mínimo; Pro.: promedio; Máx.: Máximo.

Especie	Diámetro ecuatorial mayor	Diámetro ecuatorial menor	Diámetro polar	Lesura
<i>D. dilatata</i>	36,7 (52,5) 59,5	28 (31,6) 36,7	28 (33,7) 36,8	17,5 (27) 35
<i>D. filix-mas</i>	43,7 (50,6) 63	29,7 (34,5) 40,2	28 (33,6) 45,5	31,5 (34,9) 42
<i>D. patula</i>	40,2 (47,4) 54,2	28 (34,2) 40,2	29,7 (34,5) 39,4	17,5 (25,4) 32,4
<i>D. wallichiana</i>	38,9 (48,4) 57,3	27,1 (32,4) 37,2	28,4 (34,5) 39,4	22,1 (28,2) 35,9

TABLA 2. Datos cuantitativos de las esporas de las especies de *Dryopteris* en el Cono Sur de América. Medidas en μm . Mín.: mínimo; Pro.: promedio; Máx.: Máximo.

3.3. ULTRAESTRUCTURA

3.3.1. *CTENITIS*

El exosporio en las especies analizadas del género *Ctenitis* es de 0,19-0,93 μm de ancho, es liso y está compuesto de 2 capas. La capa interna está más contrastada que la externa y es más delgada. El exosporio se ensancha en la base de la lesura y además, se observan canales simples y ramificados.

El perisporio en las especies analizadas del género *Ctenitis* es de 0,19-1,24 μm de ancho, es liso y está compuesto de 2 capas. La capa interna está más contrastada que la externa y es más gruesa, además, es la que forma la ornamentación. La capa externa es delgada y cubre todas las superficies internas y externas de los pliegues.

3.3.1.1. *Ctenitis eriocaulis* (Figura 39A-E)

El exosporio de 0,19-0,61 μm de ancho, es liso y está compuesto de 2 capas: la interna, de 0,01-0,07 μm de ancho, está más contrastada que la externa, la cual es de 0,4-0,54 μm de ancho (Fig. 39, C). El exosporio se ensancha en la base de la lesura (Fig. 39, B). En el exosporio externo se observan canales simples y ramificados (Fig. 39, D).

El perisporio de 0,19-0,86 μm está compuesto por 2 capas. La capa interna de 0,07-0,6 μm de ancho, se observa más contrastada que el exosporio y es la que forma la ornamentación (Fig. 39, A). La capa externa de 0,02-0,27 μm de ancho, está menos contrastada que la interna y cubre todas las superficies internas y externas de los pliegues (Fig. 39, E). Un pliegue supralesural cubre la lesura (Fig. 39, B). Varias pequeñas porciones de membranas (escamas) están inmersas en el perisporio en la zona donde esta pared limita con el exosporio (Fig. 39, E).

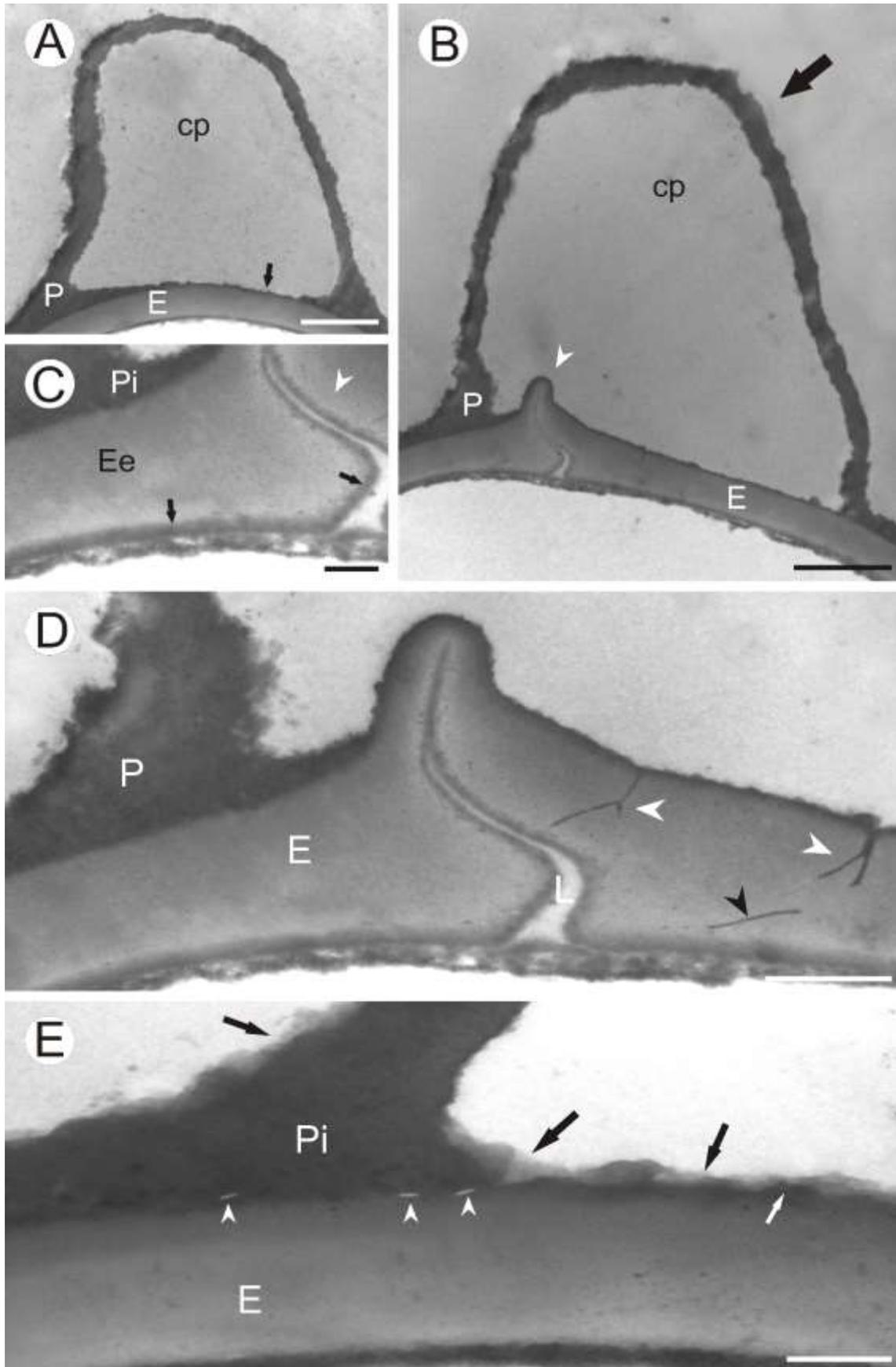


Figura 39. Secciones con MET de la pared de las esporas de *C. eriocaulis* del Cono Sur de América.

Figura 39. *C. eriocaulis*: **A)** Corte a través de un pliegue. Se observa el exosporio liso (E) y el perisporio (P) forma la ornamentación. La flecha señala la base del pliegue. cp: cavidad del pliegue. **B)** Corte a través del pliegue supralesural (flecha). Se aprecia cómo se ensancha el exosporio (E) donde emerge la lesura (cabeza de flecha). P: perisporio; cp: cavidad del pliegue. **C)** Sección a través del esporoderma. El exosporio interno (flechas) es muy delgado y más contrastado que el exosporio externo (Ee). Se observa la lesura (cabeza de flecha) y el perisporio interno (Pi). **D)** Sección a través de la lesura (L). Canales simples (cabeza de flecha negra) y ramificados (cabezas de flecha blancas) se destacan en el exosporio (E). P: perisporio. **E)** Corte a través del esporoderma. Se observa el exosporio (E) liso. El perisporio se compone de 2 capas: el perisporio interno (Pi) que forma la ornamentación y el perisporio externo (flechas negras) que cubre las superficies internas y externas del pliegue. La flecha blanca señala, en el interior del pliegue, la base del mismo. Numerosas escamas (cabezas de flecha) se observan en el perisporio.

Escala de las barras: **A:** 1,5 μm ; **B; D:** 0,5 μm ; **C:** 0,2 μm ; **E:** 0,3 μm .

3.3.1.2. *Ctenitis submarginalis* (Figura 40A-F)

El exosporio de 0,36-0,93 μm de ancho, es liso y está compuesto de 2 capas: la interna, de 0,02-0,07 μm de ancho, está más contrastada que la externa, la cual es de 0,29-0,92 μm de ancho (Fig. 40, D). El exosporio se ensancha en la base de la lesura (Fig. 40, B). Canales simples y ramificados son observados en el exosporio (Fig. 40, E).

El perisporio es de 0,25-1,24 μm y está compuesto por 2 capas. La capa interna, que es de 0,22-1,19 μm de ancho, está más contrastada que el exosporio y es la que forma la ornamentación (Fig. 40, A). La capa externa, que es de 0,01-0,12 μm de ancho, está menos contrastada que la interna y cubre todas las superficies internas y externas de los pliegues (Fig. 40, C). Varias pequeñas porciones de membranas (escamas) están inmersas en el perisporio en la zona donde esta pared limita con el exosporio (Fig. 40, F).

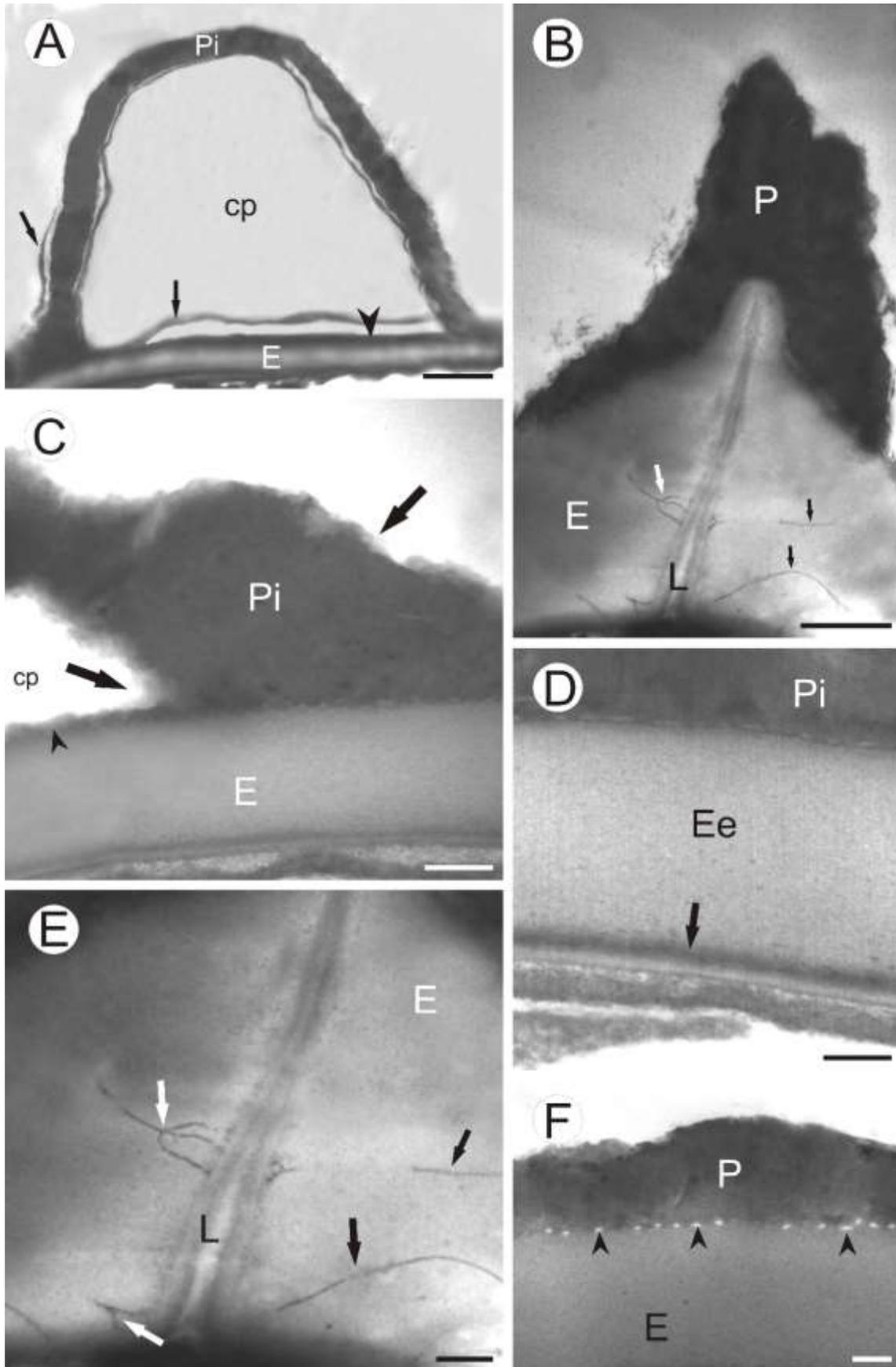


Figura 40. Secciones con MET de la pared de las esporas de *C. submarginalis* del Cono Sur de América.

Figura 40. *C. submarginalis*: **A)** Corte a través de un pliegue. El exosporio (E) es liso y el perisporio interno (Pi) forma la ornamentación. Se observan la cavidad del pliegue (cp) y la base del mismo (cabeza de flecha negra). Las flechas negras señalan al perisporio externo que cubre las superficies del perisporio interno. **B)** Corte a través de la lesura (L). Se observan canales simples (flechas negras) y ramificados (flecha blanca) en el exosporio (E). P: perisporio. **C)** Sección a través del esporoderma. Se observa cómo el perisporio externo (flechas), cubre las superficies internas y externas del perisporio interno (Pi), de mayor contraste. La cabeza de flecha señala la base del pliegue. E: exosporio. cp: cavidad del pliegue. **D)** Sección a través del esporoderma. Se observa que el exosporio interno (flecha) es muy delgado y más contrastado que el exosporio externo (Ee). Pi: perisporio interno. **E)** Sección a través de la lesura (L). Se observan en el exosporio (E) canales simples (flechas negras) y ramificados (flechas blancas). **F)** Numerosas escamas (cabezas de flecha) pequeñas se observan en la base del perisporio (P). E: exosporio.

Escala de las barras: **A:** 0,75 μm ; **B:** 0,5 μm ; **C:** 0,2 μm ; **D:** 0,3 μm ; **E:** 0,1 μm ; **F:** 0,25 μm .

3.3.2. *DRYOPTERIS*

El exosporio en las especies analizadas del género *Dryopteris* es de 0,36-1,5 μm de ancho, es liso y está compuesto de 2 capas. La capa interna está más contrastada que la externa y es más delgada. El exosporio se ensancha en la base de la lesura y además, se observan canales simples y ramificados.

El perisporio en las especies analizadas del género *Dryopteris* es de 0,07-2,22 μm de ancho, es liso y está compuesto de 2 capas. La capa interna está más contrastada que la externa y es más gruesa, además, es la que forma la ornamentación. La capa externa es delgada y cubre todas las superficies internas y externas de los pliegues. Además, la lesura está cubierta por un pliegue supralesural.

3.3.2.1. *Dryopteris patula* (Figura 41A-E)

El exosporio es de 0,36-0,64 μm de ancho, es liso y se compone de 2 capas, la interna, la cual es de 0,03-0,15 μm de ancho, es más contrastada que la externa, la cual es de 0,25-0,52 μm de ancho (Fig. 41, E). El exosporio se hace más ancho en la base de la lesura. Un pliegue supralesural cubre la lesura (Fig. 41, C). Canales simples y ramificados son observados tanto en el exosporio interno como en el externo (Fig. 41, B).

El perisporio es de 0,07-1,04 μm de ancho y se compone de 2 capas. La capa interna, de 0,05-1 μm de ancho, está más contrastada que el exosporio y es la que forma la ornamentación (Fig. 41, A). La capa externa, de 0,01-0,2 μm de ancho, está menos contrastada que la interna y cubre la superficie interna y externa de los pliegues (Fig. 41, D).

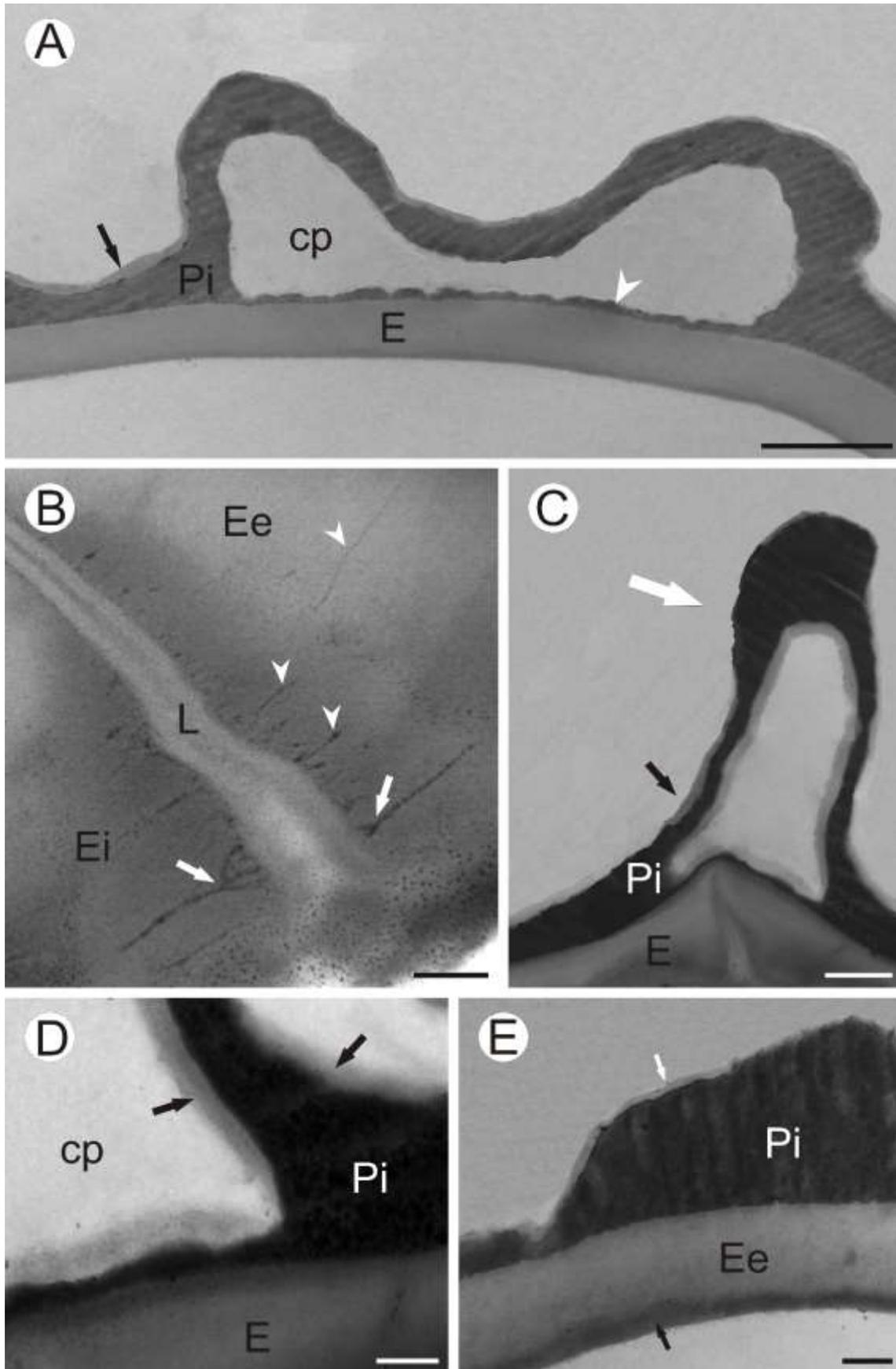


Figura 41. Secciones con MET de la pared de las esporas de *D. patula* del Cono Sur de América.

Figura 41. *D. patula*: **A)** Corte a través de un pliegue. Se observa el exosporio (E) liso y el perisporio plegado, compuesto de 2 capas: el perisporio interno (Pi) y el perisporio externo (flecha). En el interior del pliegue se observan la parte basal (cabeza de flecha) y la cavidad del pliegue (cp). **B)** Corte a través de la lesura (L). Se observan canales simples (cabezas de flecha) que atraviesan tanto el exosporio interno (Ei) como el exosporio externo (Ee) y también canales ramificados (flechas). **C)** Corte a través del pliegue supralesural (flecha blanca). Se aprecia cómo se adelgaza el perisporio en los márgenes del pliegue y se ensancha el exosporio (E) donde emerge la lesura. El perisporio interno (Pi) está más contrastado que el perisporio externo (flecha negra). **D)** Detalle de la estratificación del perisporio. Mientras que el perisporio interno (Pi) forma el pliegue, el perisporio externo (flechas) cubre las superficies externas e internas del pliegue. E: exosporio; cp: cavidad del pliegue. **E)** Estratificación del esporoderma. El exosporio interno (flecha negra) es más contrastado que el exosporio externo (Ee). El perisporio interno (Pi) está más contrastado que el perisporio externo (flecha blanca).

Escala de las barras: **A:** 0,75 μm ; **C:** 0,5 μm ; **B; D-E:** 0,25 μm .

3.3.2.2. *Dryopteris wallichiana* (Figura 42A-F)

El exosporio es de 0,79-1,32 μm de ancho, es liso y está compuesto de 2 capas: la interna, de 0,06-0,51 μm de ancho, está más contrastada que la externa, la cual es de 0,42-1,26 μm de ancho (Figs. 42, B, F). El exosporio se ensancha en la base de la lesura. Un pliegue supralesural cubre la lesura (Fig. 42, B). Canales simples y ramificados son observados en el exosporio interno (Fig. 42, C).

El perisporio es de 0,28-2,22 μm y está compuesto por 2 capas. La capa interna, que es de 0,25-2,2 μm de ancho, está más contrastada que el exosporio y es la que forma la ornamentación (Fig. 42, A). La capa externa, que es de 0,02-0,25 μm de ancho, está menos contrastada que la interna y cubre todas las superficies internas y externas de los pliegues (Fig. 42, F). Varias pequeñas porciones de membranas (escamas) están inmersas en el perisporio (Fig. 42, D). Esférulas con contraste similar al perisporio pueden ser observadas en la superficie del mismo (Fig. 42, E).

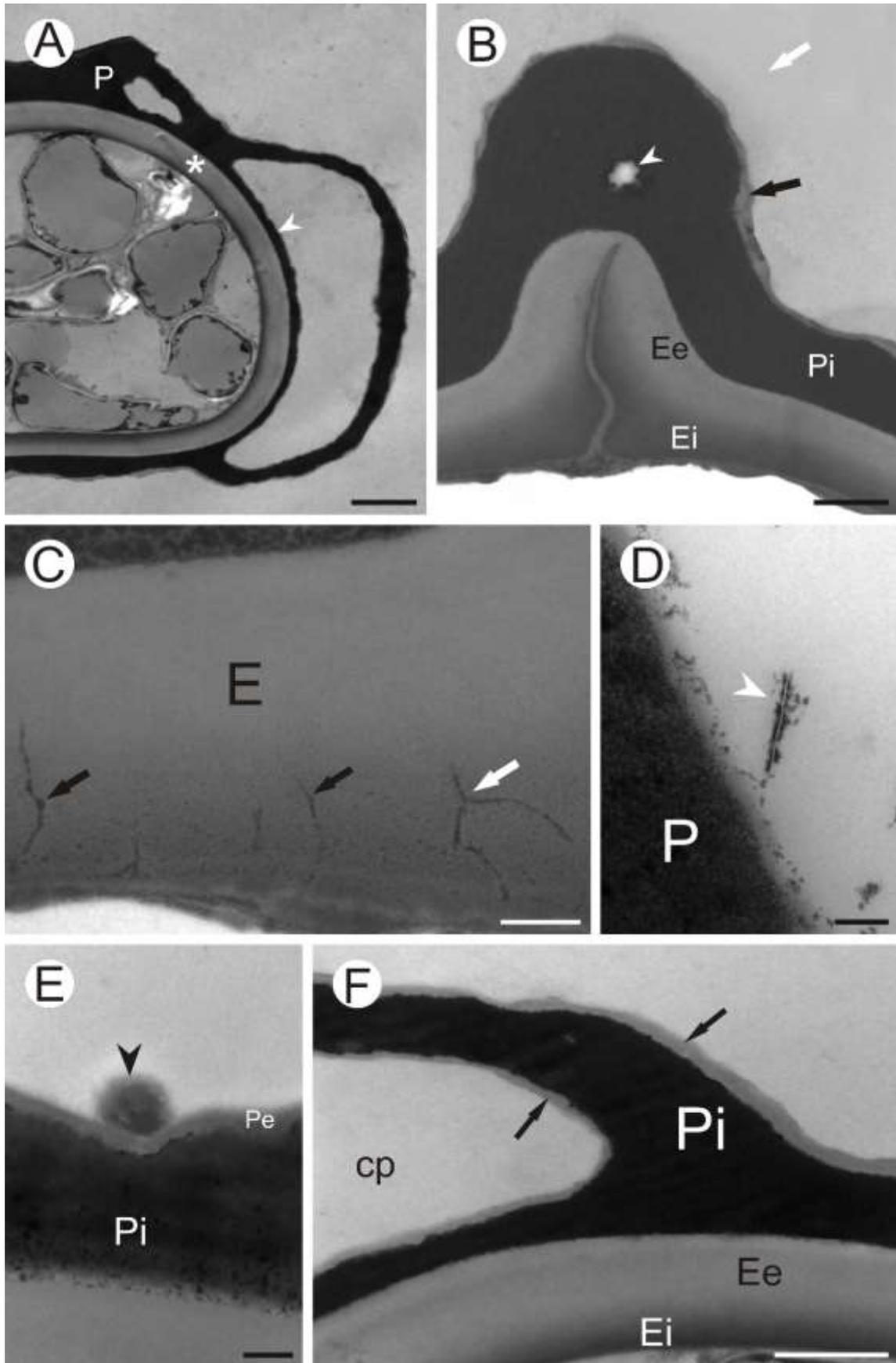


Figura 42. Secciones con MET de la pared de las esporas de *D. wallichiana* del Cono Sur de América.

Figura 42. *D. wallichiana*: **A)** Corte a través de un pliegue grande y otro más pequeño. Se observan el exosporio liso (asterisco) mientras que el perisporio (P) forma la ornamentación. **B)** Corte a través del pliegue supralesural (flecha blanca). Se aprecia como el exosporio está constituido por 2 capas: el exosporio interno (Ei) más contrastado y el exosporio externo (Ee). Mientras que el perisporio interno (Pi) forma el pliegue, el perisporio externo solo lo recubre (flecha negra). La cabeza de flecha señala la cavidad del pliegue. **C)** Canales simples (flechas negras) y ramificados (flecha blanca) en el exosporio (E). Se ubican principalmente en el exosporio interno. **D)** Detalle de una escama (cabeza de flecha) en el perisporio (P). **E)** Una esférula (cabeza de flecha) es observada en la superficie del perisporio. Ésta tiene similar contraste y estructura que el perisporio. Perisporio interno (Pi). Perisporio externo (Pe). **F)** Corte a través del esporoderma. El exosporio interno (Ei) está más contrastado que el exosporio externo (Ee). Mientras que el perisporio interno (Pi) forma el pliegue, el perisporio externo (flechas) cubren todas las superficies internas y externas del mismo. cp: cavidad del pliegue.

Escala de las barras: **A:** 2 μm ; **B:** 0,75 μm ; **C;** **E:** 0,2 μm ; **F:** 1 μm ; **D:** 0,1 μm .

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.4.1. *Ctenitis*

Diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR)

Test	Valor-p	Validación	Valor-P (transformado)	Validación	Test a realizar
Shapiro-Wilk	0.0369	NO	0.0294	NO	Kruskal-Wallis
Levene	0.0001	NO	0.0000	NO	

TABLA 3. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de *Ctenitis*.

Test de Kruskal-Wallis: Valor-P = $9.23 \cdot 10^{-11}$ >>> hay medianas que difieren entre sí.

Especie	Rangos promedio
<i>C. aspidioides</i>	175.47
<i>C. nervata</i>	157.8
<i>C. ampla</i>	149.7
<i>C. bigarellae</i>	116.67
<i>C. anniesii</i>	111.05
<i>C. paranaensis</i>	101.97
<i>C. falciculata</i>	93.4
<i>C. submarginalis</i>	90.8
<i>C. eriocaulis</i>	85.85
<i>C. distans</i>	83.75
<i>C. deflexa</i>	49.25

TABLA 4. Rangos promedio del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) por especie de *Ctenitis* a partir del test de Kruskal-Wallis.

Test de Bonferroni

Contraste	Significatividades	Diferencia	+/- Límites
<i>C. ampla</i> - <i>C. anniesii</i>		38,425	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. aspidioides</i>		-26,0	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. bigarellae</i>		32,8	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. deflexa</i>	*	100,225	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. distans</i>		65,725	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. eriocaulis</i>		63,625	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. falciculata</i>		56,075	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. nervata</i>		-8,325	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. paranaensis</i>		47,5	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. submarginalis</i>		58,675	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. aspidioides</i>		-64,425	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. bigarellae</i>		-5,625	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. deflexa</i>		61,8	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. distans</i>		27,3	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. eriocaulis</i>		25,2	66,7722

<i>C. anniesii</i> - <i>C. falciculata</i>		17,65	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. nervata</i>		-46,75	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. paranaensis</i>		9,075	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. submarginalis</i>		20,25	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. bigarellae</i>		58,8	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. deflexa</i>	*	126,225	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. distans</i>	*	91,725	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. eriocaulis</i>	*	89,625	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. falciculata</i>	*	82,075	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. nervata</i>		17,675	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. paranaensis</i>	*	73,5	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. submarginalis</i>	*	84,675	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. deflexa</i>	*	67,425	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. distans</i>		32,925	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. eriocaulis</i>		30,825	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. falciculata</i>		23,275	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. nervata</i>		-41,125	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. paranaensis</i>		14,7	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. submarginalis</i>		25,875	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. distans</i>		-34,5	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. eriocaulis</i>		-36,6	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. falciculata</i>		-44,15	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. nervata</i>	*	-108,55	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. paranaensis</i>		-52,725	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. submarginalis</i>		-41,55	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. eriocaulis</i>		-2,1	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. falciculata</i>		-9,65	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. nervata</i>	*	-74,05	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. paranaensis</i>		-18,225	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. submarginalis</i>		-7,05	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. falciculata</i>		-7,55	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. nervata</i>	*	-71,95	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. paranaensis</i>		-16,125	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. submarginalis</i>		-4,95	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. nervata</i>		-64,4	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. paranaensis</i>		-8,575	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. submarginalis</i>		2,6	66,7722
<i>C. nervata</i> - <i>C. paranaensis</i>		55,825	66,7722
<i>C. nervata</i> - <i>C. submarginalis</i>	*	67,0	66,7722
<i>C. paranaensis</i> - <i>C. submarginalis</i>		11,175	66,7722

TABLA 5. Comparación entre pares de rangos promedios para el diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de *Ctenitis*. * denota una diferencia estadísticamente significativa.

Las medianas del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de *C. ampla* y *C. bigarellae* son significativamente mayor a la mediana de *C. deflexa*. La mediana de *C. aspidioides* es significativamente mayor a las medianas de *C. deflexa*, *C. distans*, *C. eriocaulis*, *C. falciculata*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis*. La mediana de *C. nervata*

es significativamente mayor a las medianas de *C. deflexa*, *C. distans*, *C. eriocaulis* y *C. submarginalis*.

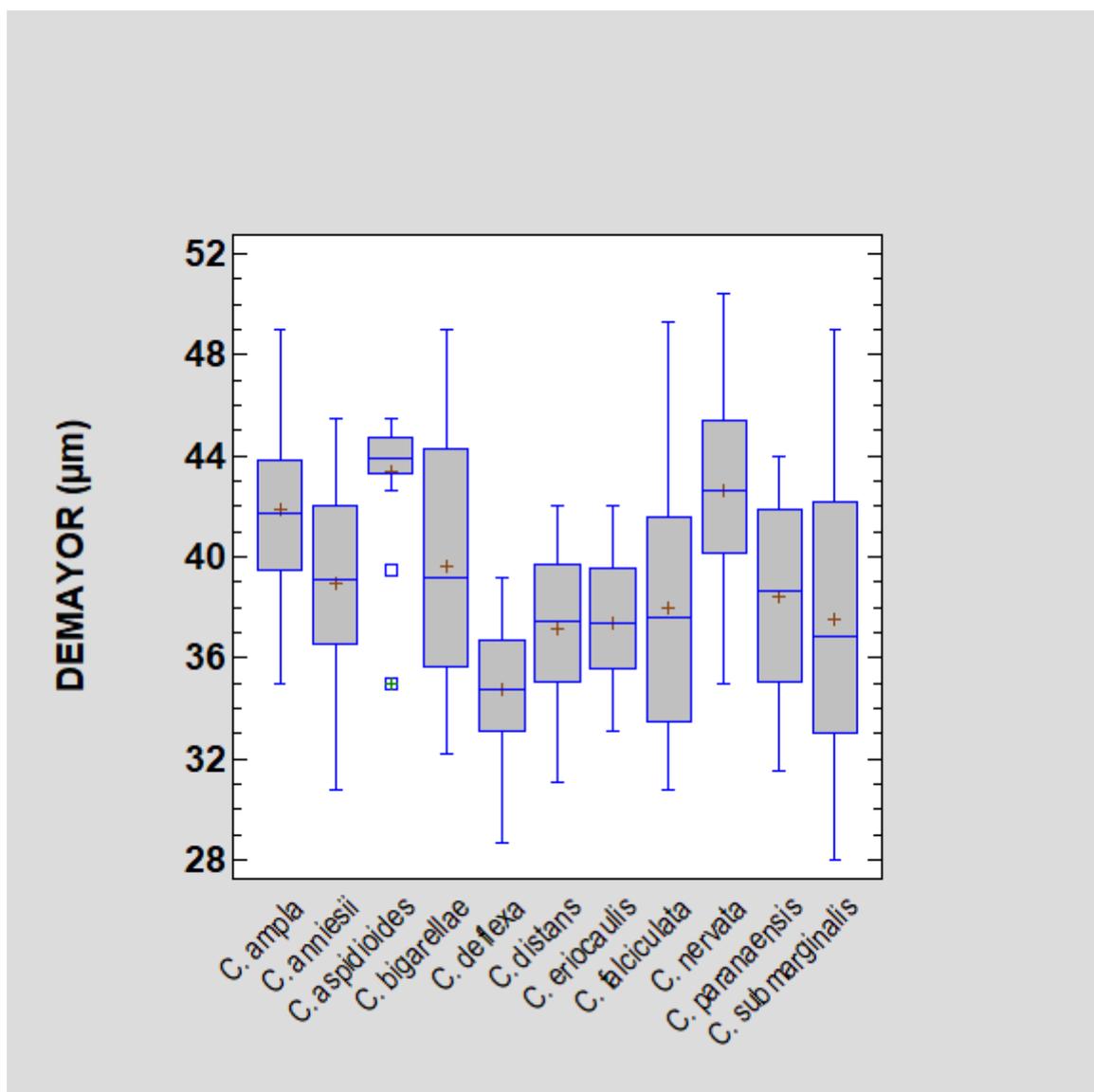


Gráfico 1. Valores ilustrativos del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) por especie para *Ctenitis*.

Diámetro ecuatorial menor (DEMENOR)

Test	Valor-p	Validación	Valor-P (transformado)	Validación	Test a realizar
Shapiro-Wilk	0.0046	NO	0.7025	SI	Kruskal-Wallis
Levene	0.0003	NO	0.0059	NO	

TABLA 6. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) de *Ctenitis*.

Test de Kruskal-Wallis: Valor-P = $4.16 \cdot 10^{-12}$ >>> hay medianas que difieren entre sí.

Especie	Rangos promedio
<i>C. ampla</i>	186.47
<i>C. aspidioides</i>	140.9
<i>C. nervata</i>	129.5
<i>C. eriocaulis</i>	119.17
<i>C. bigarellae</i>	119.1
<i>C. paranaensis</i>	102.85
<i>C. anniesii</i>	102.27
<i>C. distans</i>	98.5
<i>C. falciculata</i>	96.55
<i>C. submarginalis</i>	95.42
<i>C. deflexa</i>	24.75

TABLA 7. Rangos promedio del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de *Ctenitis* a partir del test de Kruskal-Wallis.

Test de Bonferroni

Contraste	Significatividades	Diferencia	+/- Límites
<i>C. ampla</i> - <i>C. anniesii</i>	*	84,2	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. aspidioides</i>		45,575	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. bigarellae</i>	*	67,375	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. deflexa</i>	*	161,725	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. distans</i>	*	87,975	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. eriocaulis</i>	*	67,3	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. falciculata</i>	*	89,925	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. nervata</i>		56,975	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. paranaensis</i>	*	83,625	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. submarginalis</i>	*	91,05	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. aspidioides</i>		-38,625	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. bigarellae</i>		-16,825	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. deflexa</i>	*	77,525	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. distans</i>		3,775	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. eriocaulis</i>		-16,9	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. falciculata</i>		5,725	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. nervata</i>		-27,225	66,7722

<i>C. anniesii</i> - <i>C. paranaensis</i>		-0,575	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. submarginalis</i>		6,85	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. bigarellae</i>		21,8	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. deflexa</i>	*	116,15	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. distans</i>		42,4	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. eriocaulis</i>		21,725	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. falciculata</i>		44,35	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. nervata</i>		11,4	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. paranaensis</i>		38,05	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. submarginalis</i>		45,475	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. deflexa</i>	*	94,35	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. distans</i>		20,6	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. eriocaulis</i>		-0,075	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. falciculata</i>		22,55	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. nervata</i>		-10,4	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. paranaensis</i>		16,25	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. submarginalis</i>		23,675	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. distans</i>	*	-73,75	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. eriocaulis</i>	*	-94,425	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. falciculata</i>	*	-71,8	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. nervata</i>	*	-104,75	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. paranaensis</i>	*	-78,1	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. submarginalis</i>	*	-70,675	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. eriocaulis</i>		-20,675	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. falciculata</i>		1,95	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. nervata</i>		-31,0	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. paranaensis</i>		-4,35	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. submarginalis</i>		3,075	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. falciculata</i>		22,625	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. nervata</i>		-10,325	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. paranaensis</i>		16,325	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. submarginalis</i>		23,75	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. nervata</i>		-32,95	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. paranaensis</i>		-6,3	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. submarginalis</i>		1,125	66,7722
<i>C. nervata</i> - <i>C. paranaensis</i>		26,65	66,7722
<i>C. nervata</i> - <i>C. submarginalis</i>		34,075	66,7722
<i>C. paranaensis</i> - <i>C. submarginalis</i>		7,425	66,7722

TABLA 8. Comparación entre pares de rangos promedios para el diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) de *Ctenitis*. * denota una diferencia estadísticamente significativa.

La mediana del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) de *C. ampla* es significativamente mayor que las medianas de *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. deflexa*, *C. distans*, *C. eriocaulis*, *C. falciculata*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis*. Las medianas de *C. anniesii*, *C. aspidioides*, *C. bigarellae*, *C. distans*, *C. eriocaulis*, *C. falciculata*, *C.*

nervata, *C. paranaensis* y *C. submarginalis* son significativamente mayores a la mediana de *C. deflexa*.

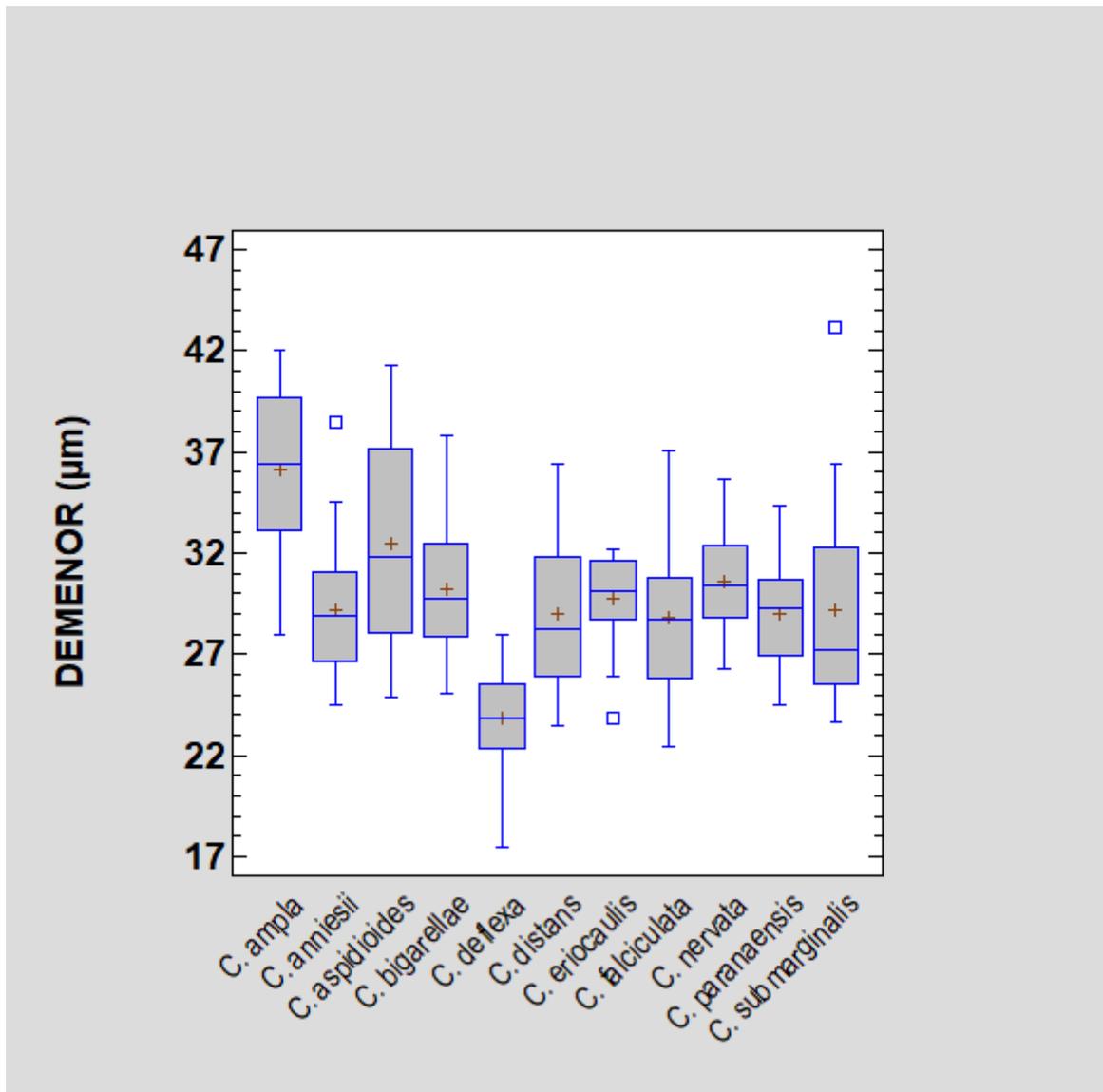


Gráfico 2. Valores ilustrativos del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de *Ctenitis*.

Diámetro polar (DP)

Test	Valor-p	Validación	Valor-P (transformado)	Validación	Test a realizar
Shapiro-Wilk	0.6739	SI	0.6765	SI	Kruskal-Wallis
Levene	0.0000	NO	0.0000	NO	

TABLA 9. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro polar (DP) de *Ctenitis*.

Test de Kruskal-Wallis: Valor-P = $2.42 \cdot 10^{-10}$ >>> hay medianas que difieren entre sí.

Especie	Rangos promedio
<i>C. ampla</i>	169.27
<i>C. aspidioides</i>	161.07
<i>C. nervata</i>	128.35
<i>C. anniesii</i>	115.22
<i>C. eriocaulis</i>	113.07
<i>C. falciculata</i>	111.5
<i>C. bigarellae</i>	107.47
<i>C. submarginalis</i>	96.1
<i>C. distans</i>	92.57
<i>C. paranaensis</i>	87.7
<i>C. deflexa</i>	33.15

TABLA 10. Rangos promedio del diámetro polar (DP) por especie de *Ctenitis* a partir del test de Kruskal-Wallis.

Test de Bonferroni

Contraste	Significatividades	Diferencia	+/- Límites
<i>C. ampla</i> - <i>C. anniesii</i>		54,05	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. aspidioides</i>		8,2	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. bigarellae</i>		61,8	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. deflexa</i>	*	136,125	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. distans</i>	*	76,7	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. eriocaulis</i>		56,2	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. falciculata</i>		57,775	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. nervata</i>		40,925	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. paranaensis</i>	*	81,575	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. submarginalis</i>	*	73,175	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. aspidioides</i>		-45,85	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. bigarellae</i>		7,75	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. deflexa</i>	*	82,075	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. distans</i>		22,65	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. eriocaulis</i>		2,15	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. falciculata</i>		3,725	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. nervata</i>		-13,125	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. paranaensis</i>		27,525	66,7722

<i>C. anniesii</i> - <i>C. submarginalis</i>		19,125	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. bigarellae</i>		53,6	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. deflexa</i>	*	127,925	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. distans</i>	*	68,5	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. eriocaulis</i>		48,0	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. falciculata</i>		49,575	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. nervata</i>		32,725	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. paranaensis</i>	*	73,375	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. submarginalis</i>		64,975	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. deflexa</i>	*	74,325	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. distans</i>		14,9	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. eriocaulis</i>		-5,6	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. falciculata</i>		-4,025	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. nervata</i>		-20,875	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. paranaensis</i>		19,775	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. submarginalis</i>		11,375	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. distans</i>		-59,425	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. eriocaulis</i>	*	-79,925	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. falciculata</i>	*	-78,35	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. nervata</i>	*	-95,2	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. paranaensis</i>		-54,55	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. submarginalis</i>		-62,95	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. eriocaulis</i>		-20,5	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. falciculata</i>		-18,925	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. nervata</i>		-35,775	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. paranaensis</i>		4,875	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. submarginalis</i>		-3,525	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. falciculata</i>		1,575	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. nervata</i>		-15,275	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. paranaensis</i>		25,375	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. submarginalis</i>		16,975	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. nervata</i>		-16,85	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. paranaensis</i>		23,8	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. submarginalis</i>		15,4	66,7722
<i>C. nervata</i> - <i>C. paranaensis</i>		40,65	66,7722
<i>C. nervata</i> - <i>C. submarginalis</i>		32,25	66,7722
<i>C. paranaensis</i> - <i>C. submarginalis</i>		-8,4	66,7722

TABLA 11. Comparación entre pares de rangos promedios para el diámetro polar (DP) de *Ctenitis*. * denota una diferencia estadísticamente significativa.

La mediana del diámetro polar (DP) de *C. ampla* es significativamente mayor que las medianas de *C. deflexa*, *C. distans*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis*. La mediana de *C. aspidioides* es significativamente mayor a las medianas de *C. deflexa*, *C. distans* y *C. paranaensis*. Las medianas de *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. eriocaulis*, *C. falciculata* y *C. nervata* son significativamente mayores que la mediana de *C. deflexa*.

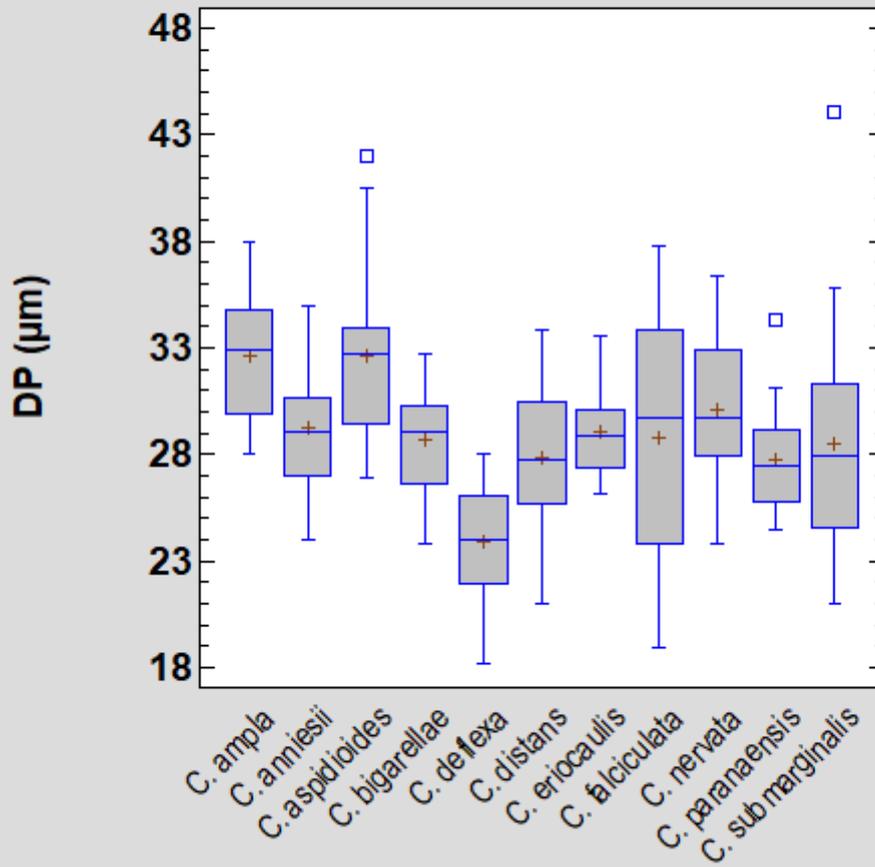


Gráfico 3. Valores ilustrativos del diámetro polar (DP) por especie de *Ctenitis*.

Lesura (L)

Test	Valor-p	Validación	Valor-P (transformado)	Validación	Test a realizar
Shapiro-Wilk	0.0551	SI	0.0067	NO	Kruskal-Wallis
Levene	0.0000	NO	0.0000	NO	

TABLA 12. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para la lesura (L) de *Ctenitis*.

Test de Kruskal-Wallis: Valor-P = 0.0000 >>> hay medianas que difieren entre sí.

Especie	Rangos promedio
<i>C. aspidioides</i>	179.9
<i>C. nervata</i>	168.17
<i>C. bigarellae</i>	131.52
<i>C. distans</i>	128.12
<i>C. paranaensis</i>	122.82
<i>C. anniesii</i>	122.57
<i>C. falciculata</i>	121.2
<i>C. submarginalis</i>	106.17
<i>C. deflexa</i>	70.92
<i>C. eriocaulis</i>	42.42
<i>C. ampla</i>	21.65

TABLA 13. Rangos promedio de la lesura (L) por especie de *Ctenitis* a partir del test de Kruskal-Wallis.

Test de Bonferroni

Contraste	Significatividades	Diferencia	+/- Límites
<i>C. ampla</i> - <i>C. anniesii</i>	*	-100,925	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. aspidioides</i>	*	-158,25	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. bigarellae</i>	*	-109,875	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. deflexa</i>		-49,275	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. distans</i>	*	-106,475	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. eriocaulis</i>		-20,775	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. falciculata</i>	*	-99,55	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. nervata</i>	*	-146,525	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. paranaensis</i>	*	-101,175	66,7722
<i>C. ampla</i> - <i>C. submarginalis</i>	*	-84,525	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. aspidioides</i>		-57,325	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. bigarellae</i>		-8,95	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. deflexa</i>		51,65	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. distans</i>		-5,55	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. eriocaulis</i>	*	80,15	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. falciculata</i>		1,375	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. nervata</i>		-45,6	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. paranaensis</i>		-0,25	66,7722
<i>C. anniesii</i> - <i>C. submarginalis</i>		16,4	66,7722

<i>C. aspidioides</i> - <i>C. bigarellae</i>		48,375	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. deflexa</i>	*	108,975	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. distans</i>		51,775	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. eriocaulis</i>	*	137,475	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. falciculata</i>		58,7	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. nervata</i>		11,725	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. paranaensis</i>		57,075	66,7722
<i>C. aspidioides</i> - <i>C. submarginalis</i>	*	73,725	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. deflexa</i>		60,6	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. distans</i>		3,4	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. eriocaulis</i>	*	89,1	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. falciculata</i>		10,325	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. nervata</i>		-36,65	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. paranaensis</i>		8,7	66,7722
<i>C. bigarellae</i> - <i>C. submarginalis</i>		25,35	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. distans</i>		-57,2	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. eriocaulis</i>		28,5	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. falciculata</i>		-50,275	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. nervata</i>	*	-97,25	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. paranaensis</i>		-51,9	66,7722
<i>C. deflexa</i> - <i>C. submarginalis</i>		-35,25	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. eriocaulis</i>	*	85,7	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. falciculata</i>		6,925	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. nervata</i>		-40,05	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. paranaensis</i>		5,3	66,7722
<i>C. distans</i> - <i>C. submarginalis</i>		21,95	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. falciculata</i>	*	-78,775	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. nervata</i>	*	-125,75	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. paranaensis</i>	*	-80,4	66,7722
<i>C. eriocaulis</i> - <i>C. submarginalis</i>		-63,75	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. nervata</i>		-46,975	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. paranaensis</i>		-1,625	66,7722
<i>C. falciculata</i> - <i>C. submarginalis</i>		15,025	66,7722
<i>C. nervata</i> - <i>C. paranaensis</i>		45,35	66,7722
<i>C. nervata</i> - <i>C. submarginalis</i>		62,0	66,7722
<i>C. paranaensis</i> - <i>C. submarginalis</i>		16,65	66,7722

TABLA 14. Comparación entre pares de rangos promedios para la lesura (L) de *Ctenitis*. * denota una diferencia estadísticamente significativa.

La mediana de la lesura (L) de *C. aspidioides* es significativamente mayor que las medianas de *C. ampla*, *C. deflexa*, *C. eriocaulis* y *C. submarginalis*. La mediana de *C. nervata* es significativamente mayor que las medianas de *C. ampla*, *C. deflexa* y *C. eriocaulis*. Las medianas de *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. distans*, *C. falciculata* y *C. paranaensis* son significativamente mayores que las medianas de *C. ampla* y *C.*

ericaulis. La mediana de *C. submarginalis* es significativamente mayor que la mediana de *C. ampla*.

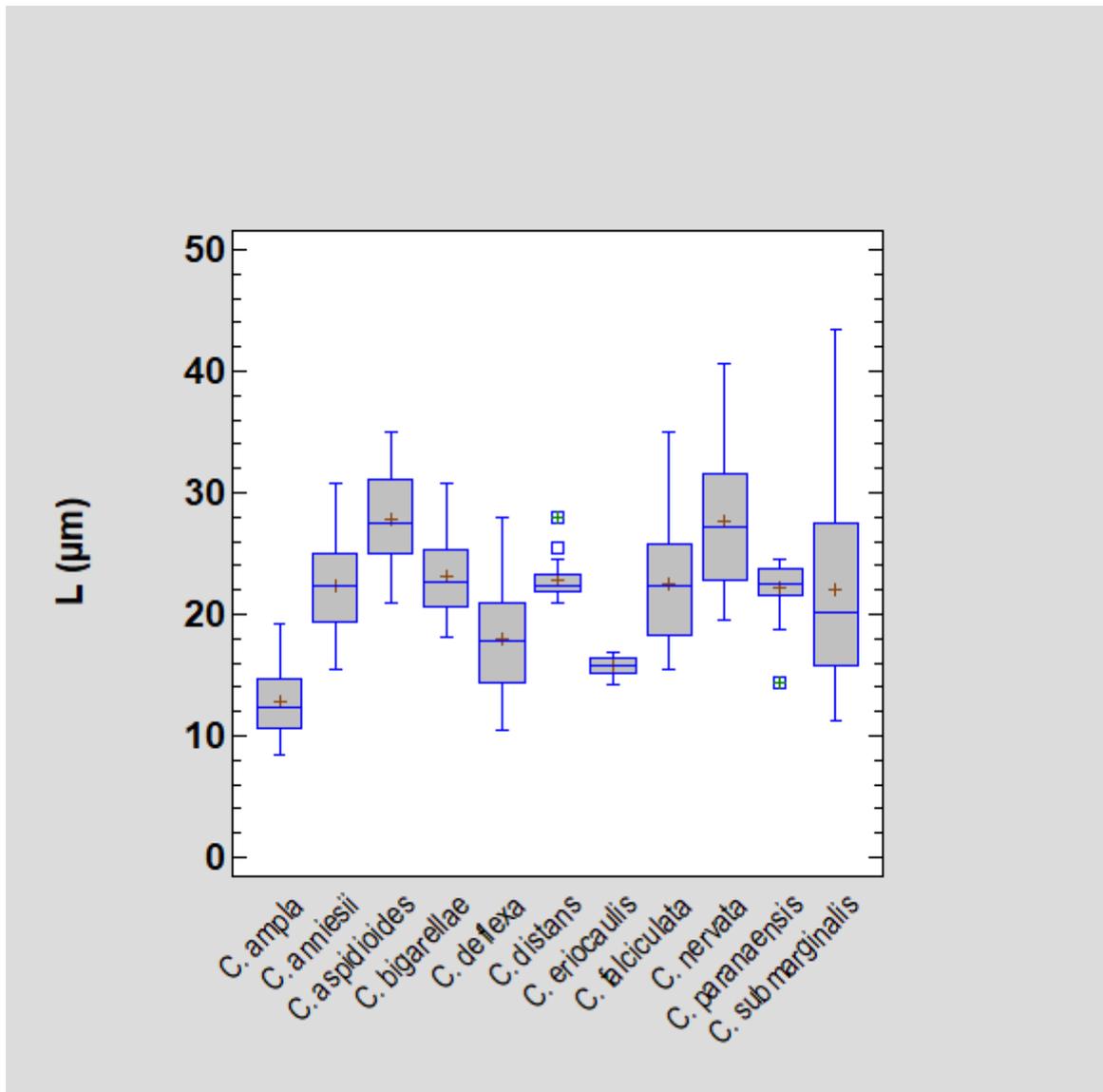


Gráfico 4. Valores ilustrativos de la longitud de la lesura (L) por especie de *Ctenitis*.

3.4.2. *Dryopteris*

Diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR)

Test	Valor-p	Validación	Valor-P (transformado)	Validación	Test a realizar
Shapiro-Wilk	0.0631	SI	0.0550	SI	Kruskal-Wallis
Levene	0.0008	NO	0.0009	NO	

TABLA 15. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de *Dryopteris*.

Test de Kruskal-Wallis: Valor-P = 0,0116 >>> hay medianas que difieren entre sí.

Especie	Rango promedio
<i>D. filix-mas</i>	54.32
<i>D. dilatata</i>	41.2
<i>D. wallichiana</i>	33,42
<i>D. patula</i>	33,05

TABLA 16. Rangos promedio del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) por especie de *Dryopteris* a partir del test de Kruskal-Wallis.

Test de Bonferroni

Contraste	Significatividades	Diferencia	+/- Límites
<i>D. dilatata</i> - <i>D. filix-mas</i>		-13,125	19,3872
<i>D. dilatata</i> - <i>D. patula</i>		8,15	19,3872
<i>D. dilatata</i> - <i>D. wallichiana</i>		7,775	19,3872
<i>D. filix-mas</i> - <i>D. patula</i>	*	21,275	19,3872
<i>D. filix-mas</i> - <i>D. wallichiana</i>	*	20,9	19,3872
<i>D. patula</i> - <i>D. wallichiana</i>		-0,375	19,3872

TABLA 17. Comparación entre pares de rangos promedio para el diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de *Dryopteris*. * denota una diferencia estadísticamente significativa.

La mediana del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) de *D. filix-mas* es significativamente mayor que las medianas de *D. patula* y *D. wallichiana*.

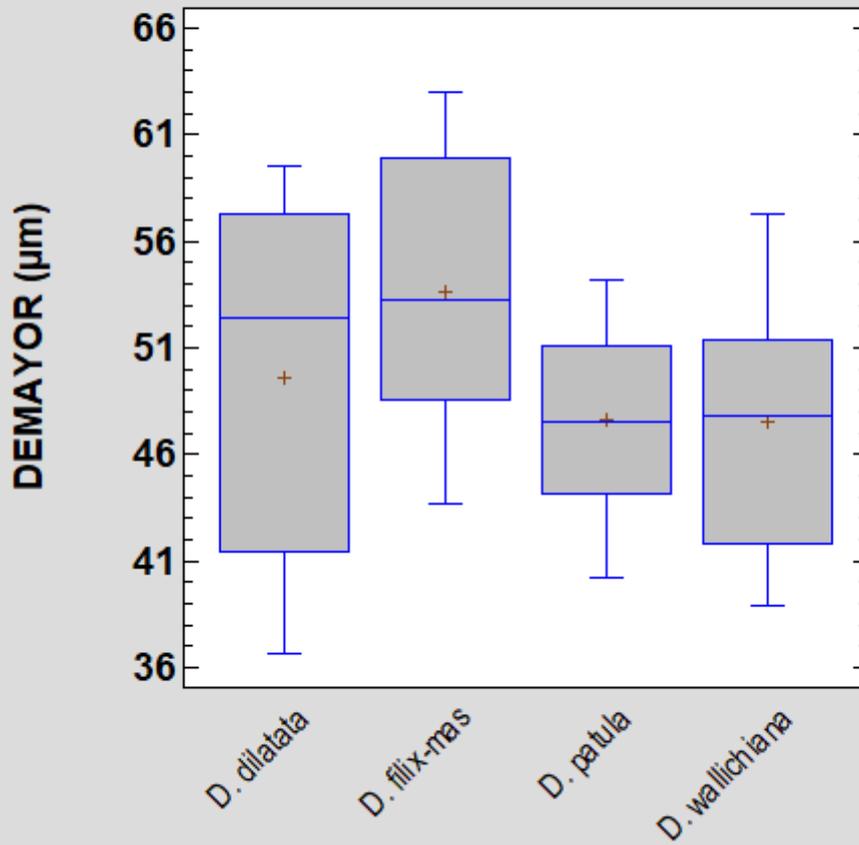


Gráfico 5. Valores ilustrativos del diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) por especie de *Dryopteris*.

Diámetro ecuatorial menor (DEMENOR)

Test	Valor-p	Validación	Valor-P (transformado)	Validación	Test a realizar
Shapiro-Wilk	0.1109	SI			ANOVA
Levene	0.2361	SI			

TABLA 18. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) de *Dryopteris*.

Test de ANOVA: Valor-P = **0,0068** >>> hay medianas que difieren entre sí.

Test de LSD

Especie	Medias
<i>D. filix-mas</i>	34.58
<i>D. patula</i>	34.21
<i>D. wallichiana</i>	34.20
<i>D. dilatata</i>	31.62

TABLA 19. Valores de las medias del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de *Dryopteris*.

Contraste	Significatividades	Diferencia	+/- Límites
<i>D. dilatata</i> - <i>D. filix-mas</i>	*	-2,96	1,84066
<i>D. dilatata</i> - <i>D. patula</i>	*	-2,59	1,84066
<i>D. dilatata</i> - <i>D. wallichiana</i>	*	-2,58	1,84066
<i>D. filix-mas</i> - <i>D. patula</i>		0,37	1,84066
<i>D. filix-mas</i> - <i>D. wallichiana</i>		0,38	1,84066
<i>D. patula</i> - <i>D. wallichiana</i>		0,01	1,84066

TABLA 20. Comparación entre los valores promedios del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de *Dryopteris*. * denota una diferencia estadísticamente significativa.

La media del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) de *D. dilatata* es significativamente menor a las medias de *D. filix-más*, *D. patula* y *D. wallichiana*.

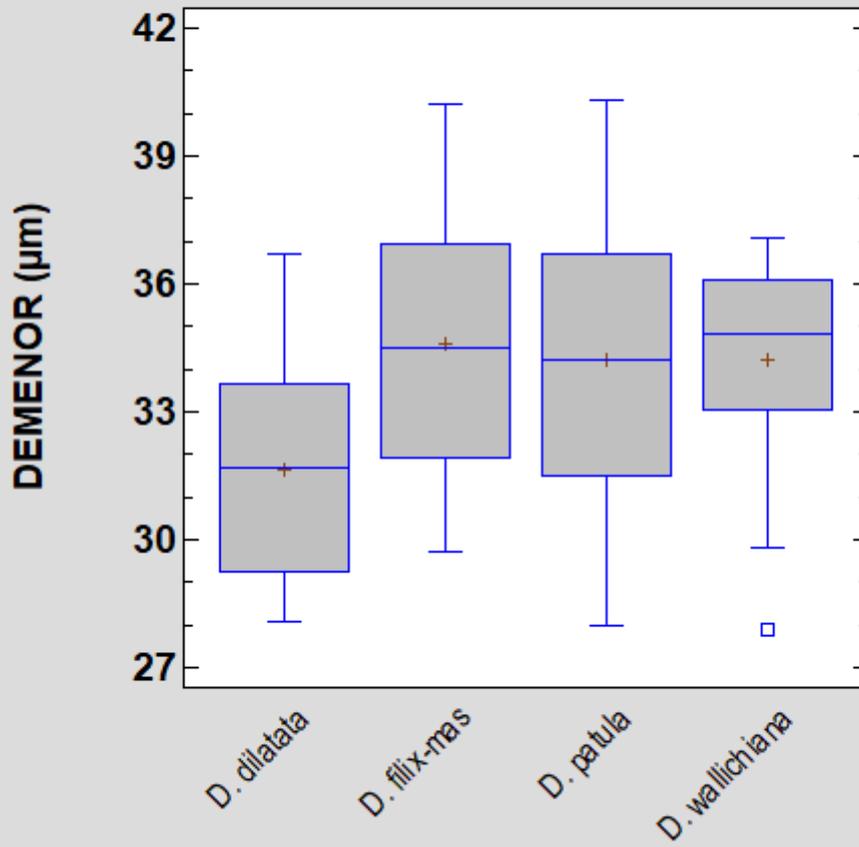


Gráfico 6. Valores ilustrativos del diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) por especie de *Dryopteris*.

Diámetro polar (DP)

Test	Valor-p	Validación	Valor-P (transformado)	Validación	Test a realizar
Shapiro-Wilk	0.3415	SI			ANOVA
Levene	0.1096	SI			

TABLA 21. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para el diámetro polar (DP) de *Dryopteris*.

Test de ANOVA: Valor-P = **0,6984** >>> En el diámetro polar (DP) no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

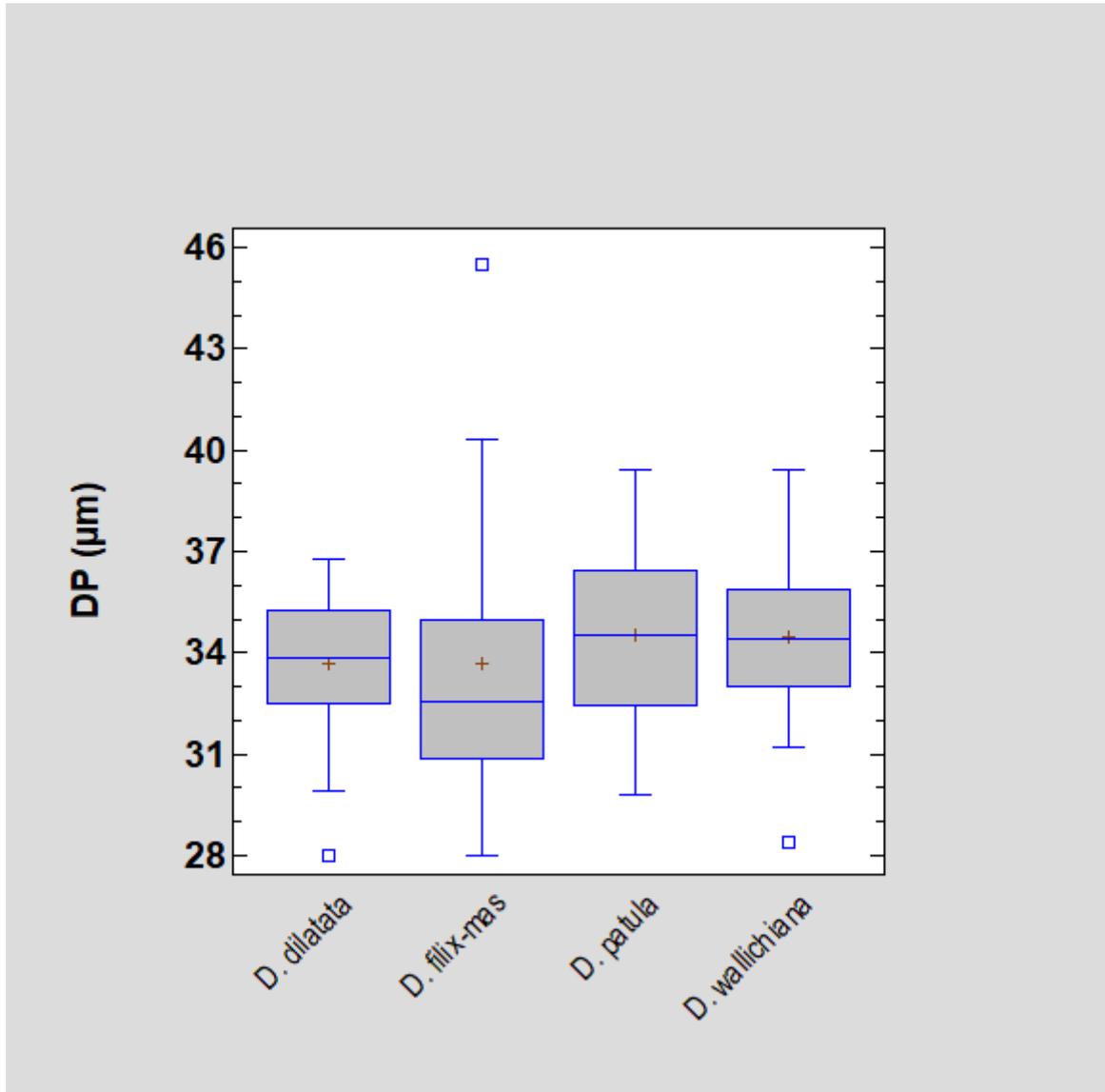


Gráfico 7. Valores ilustrativos del diámetro polar (DP) por especie de *Dryopteris*.

Lesura (L)

Test	Valor-p	Validación	Valor-P (transformado)	Validación	Test a realizar
Shapiro-Wilk	0.4162	SI	0.0282	NO	Kruskal-Wallis
Levene	0.0223	NO	0.0016	NO	

TABLA 22. Testeo de los supuestos, transformación de datos y reevaluación de los supuestos a partir del valor-p inicial y posterior test a realizar para la lesura (L) de *Dryopteris*.

Test de Kruskal-Wallis: Valor-P = $4.60 \cdot 10^{-8}$ >>> hay medianas que difieren entre sí.

Especie	Rangos promedio
<i>D. filix-mas</i>	66.82
<i>D. wallichiana</i>	37.37
<i>D. dilatata</i>	32.57
<i>D. patula</i>	25.22

TABLA 23. Rangos promedio de la lesura (L) por especie de *Dryopteris* a partir del test de Kruskal-Wallis.

Test de Bonferroni

Contraste	Significatividades	Diferencia	+/- Límites
<i>D. dilatata</i> - <i>D. filix-mas</i>	*	-34,25	19,3872
<i>D. dilatata</i> - <i>D. patula</i>		7,35	19,3872
<i>D. dilatata</i> - <i>D. wallichiana</i>		-4,8	19,3872
<i>D. filix-mas</i> - <i>D. patula</i>	*	41,6	19,3872
<i>D. filix-mas</i> - <i>D. wallichiana</i>	*	29,45	19,3872
<i>D. patula</i> - <i>D. wallichiana</i>		-12,15	19,3872

TABLA 24. Comparación entre pares de rangos promedio para la lesura (L) de *Dryopteris*. * denota una diferencia estadísticamente significativa.

La mediana de la longitud de la lesura (L) de *D. filix-mas* es significativamente mayor a las medianas de *D. dilatata*, *D. patula* y *D. wallichiana*.

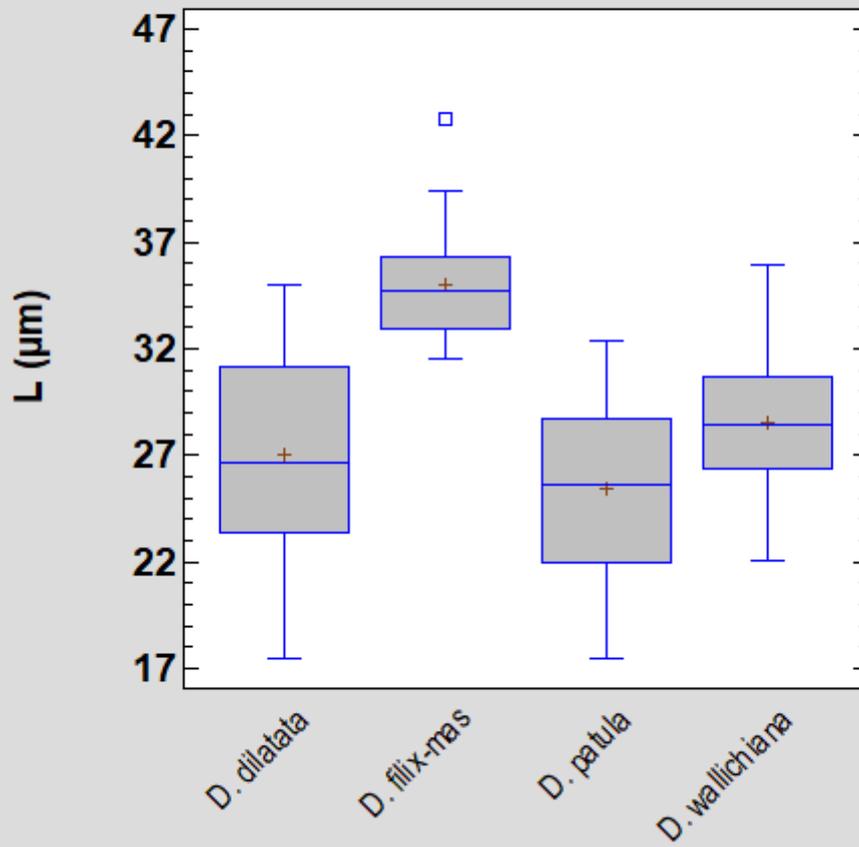


Gráfico 8. Valores ilustrativos de la longitud de la lesura (L) por especie de *Dryopteris*.

4. DISCUSIÓN

Un tópico muy importante a tener en cuenta dentro de las descripciones y menciones que otros autores han hecho y que se irán desarrollando sobre las diferentes especies es la de la aplicación de algunos términos descriptivos sobre la ornamentación. En principio, el más usado por varios autores en la descripción de especies con esporas rugadas es el término tubérculo. Si bien se parte de que el tipo escultural está conformado por pliegues, cabe aclarar que estos son huecos, de diversa altura y grosor y que son estructuras formadas por el perisporio. De esta manera, diversos autores definen el término tubérculo de maneras muy similares y dejando en claro que no es una estructura hueca y que está formada por el exosporio. Así, la definición de tubérculo según Tryon y Lugardon (1991) consiste en proyecciones tipo verruga que son usualmente más altos que anchos. Por su parte, Lellinger (2002) y Yáñez (2015) lo definen como un elemento positivo, más alto que ancho, de forma regular y de ápice obtuso o redondeado. Por lo que el uso del término tubérculo en las menciones dentro de esporas rugadas, se considera incorrecto.

4.1. MORFOLOGÍA DE LAS ESPORAS DE *CTENITIS*

El género *Ctenitis* es un género que habita en las regiones tropicales de Asia, África y América, pero a pesar de su amplia distribución, son pocos los estudios realizados que abarcan este género y los análisis palinológicos escasean aún más.

Los estudios florísticos han proporcionado algunos datos sobre las esporas del género en diversas regiones. Para la región del sudeste asiático, Zhang et al. (2013) observaron las esporas de 10 especies de *Ctenitis* que habitan en China, y mostraron que el perisporio de éstas puede presentar pliegues inflados a groseros y equinas groseras. Esta variabilidad en la ornamentación de las esporas no se correlaciona con alguna otra característica de los esporofitos que permita diferenciar grupos naturales de especies.

Por su parte, Holttum (1985) analizó las esporas de las 32 especies de *Ctenitis* en el sudeste asiático, Malasia y las islas del oeste del Océano Pacífico. Según este autor, las esporas plegadas, vistas en el MO parecen presentar alas en apariencia transparentes, concordando con Tryon y Stolze (1991). Otros autores como Crane (1960) y Montgomery (1982) también afirman que los pliegues bajo el MO pueden parecer alas, tal como lo mencionan para las esporas plegadas del género *Dryopteris* en América del Norte.

De acuerdo a Holttum (1983) las esporas de las 10 especies de *Ctenitis* que habitan en las Islas Mascareñas presentan un perisporio muy complejo y una estructura muy variada. Además, aseguró que aunque el estudio con MEB revela detalles con mucha claridad, estas esporas son difíciles de comprender y de describir. También observó que esta gran diversidad en la morfología del perisporio, dificulta ciertamente su comprensión y descripción, pero más que nada dificulta su diferenciación. Sin embargo, este autor evidenció que dentro del género hay dos grupos de especies, el primero corresponde a la sección *Ctenitis*, y cuenta con esporas que poseen pliegues anchos e irregulares, mientras que las especies del otro grupo, pertenecientes a la sección *Subincisae* cuentan con esporas con espinas cortas. Situación semejante que se presenta en las especies americanas estudiadas por Christensen (1913, 1920) y Viveros et al. (2018).

En el estudio florístico realizado por Tryon y Tryon (1982) que englobó especies de *Ctenitis* de América Central, además de algunas sudamericanas, aseguran que el género posee esporas de 2 formas básicas: equinadas o sacadas (=rugadas). Esta premisa fue corroborada también por Viveros et al. (2018) y de la misma forma, lo observado en esta tesis permitió arribar a esta inferencia. Tryon y Tryon (1982) proponen que cada uno de estos tipos morfológicos observados en el género posee una diversidad inusual en sus detalles.

En lo que respecta a Sudamérica, Tryon y Stolze (1991) para Perú y Nee (2010) para Bolivia, han mencionado que las esporas de *Ctenitis* son “sacadas-gemuladas” o equinadas. Se podría comparar a los sacos con los pliegues más grandes. Mientras que a las gémulas se las puede comparar con los tubérculos mencionados por Tryon y Lugardon (1991), sin embargo, el término correcto es pliegue, y esta confusión puede deberse a la apariencia redondeada y baja de pliegues pequeños.

Para el norte de Argentina, Ponce y Martínez (2012), mencionan que las esporas del género *Ctenitis* poseen una superficie equinulada. En esta región del país cohabitan *C. ampla* y *C. submarginalis*, y ninguna de las 2 especies presentan este tipo de superficie en el perisporio, ya que la primera presenta groseras equinas y la segunda presenta un perisporio rugado, formado por pliegues y una superficie escabrosa.

Los estudios palinológicos propiamente dichos que abarcan al género *Ctenitis* son escasos.

El análisis más completo a nivel mundial fue el realizado por Tryon y Lugardon (1991), quienes examinaron las esporas de 22 especies de *Ctenitis* con material proveniente de Asia, África y América. Estos autores observaron que la forma en vista

polar puede ser elipsoidal o algo esferoidal. En esta tesis se coincide con lo mencionado por estos autores, aunque la mayoría de las especies de *Ctenitis* del Cono Sur presentan una forma elipsoidal en esta vista. Además, en esta tesis se observó que *C. ampla* puede presentar ambas formas, tanto elipsoidal como subcircular.

De acuerdo a Tryon y Tryon (1982), Holttum (1983, 1985) y Tryon y Lugardon (1991), la morfología del perisporio del género es muy diversa, pudiendo presentar desde pliegues muy groseros a grandes tubérculos, pliegues ciliados o crestados hasta equinas que pueden ser bajas o groseras.

Son pocos los estudios palinológicos destinados al género *Ctenitis* en América. En un estudio que involucra varios géneros y especies de helechos de América del Norte, Reed (1952) utilizó caracteres como la presencia/ausencia de espinas en el perisporio o el tamaño relativo de las esporas para confeccionar una clave que distingue especies y grupos de especies. Dentro de esta clave menciona e incluye a *C. ampla* con su perisporio equinado. Esta especie también fue descrita e ilustrada con MO por Murillo y Bless (1978) para Colombia, donde además se mencionan e ilustran otras 3 especies que ahora pertenecen a los géneros *Lastreopsis* Ching. y *Megalastrum*, con esporas rugadas y crestadas-equinadas, respectivamente. Las esporas de *Megalastrum* son fácilmente distinguibles por su típica ornamentación de crestas paralelas por lo que se las puede diferenciar fácilmente de las esporas de *Ctenitis*. Mientras que las esporas de *Lastreopsis effusa* (Sw.) Tindale (= *C. effusa* (Sw.) Copel.) son rugadas y son muy semejantes a las esporas rugadas de *Ctenitis*.

Un estudio llevado a cabo por Moy (1988) manifiesta que este género posee 3 tipos de perisporios. El tipo alado, conformado por pliegues membranosos; el tipo crestado o plegado, formado por pliegues como en *C. submarginalis*; y por último, el tipo equinado como en *C. ampla* (= *C. villosa* (L.) Copel.). Moy (1988) presentó el único estudio donde se manifiesta que las esporas de *Ctenitis* poseen 3 tipos de perisporios, aunque el tipo alado no haya sido ilustrado.

Las esporas rugadas de *Ctenitis* poseen gran variabilidad morfológica tanto inter como intraespecífica. Esta variabilidad imposibilita una clara diferenciación entre las esporas del género, al menos en la mayoría de las especies.

4.1.1. ESPORAS EQUINADAS

La mayoría de las especies centroamericanas poseen esporas equinadas y dentro de este tipo, Tryon y Tryon (1982) reconocen al menos 3 grupos diferentes. Al primer tipo

lo catalogan como groseramente equinado, tal como lo observado en *C. vellea* (Willd.) Proctor que posee proyecciones grandes y difusas, como las observadas en esta tesis para ejemplares de Argentina de *C. ampla* o por Moy (1988) para ejemplares de Venezuela. Otro tipo es el observado en esporas de *C. hirta*, que tiene elementos más compactos e irregulares de formación asimétrica. Este tipo ornamental, según los autores, sugiere la posibilidad de irregularidades en la esporogénesis y consecuentemente, tal vez implique hibridación. Mientras que el tercer tipo que proponen poseen elementos regulares, es decir, crestas alineadas prácticamente paralelas entre sí, con márgenes erosionados o tipo espinados o dentados. Sin embargo, este último tipo de ornamentación tan particular e “inusual para las especies americanas” mencionado por estos Tryon y Tryon (1982), corresponde ahora a esporas del género *Megalastrum*, como *M. pulverulentum* (Poir.) A. R. Sm. & R. C. Moran (= *C. pulverulenta* (Poir.) Copel.), siendo este tipo de esporas muy común dentro de este género. Cabe destacar lo valioso del análisis palinológico en este caso, ya que con solo observar la ornamentación de las esporas, se puede inferir en primera instancia, si pertenece o no al género *Ctenitis*.

Las esporas de *C. ampla* fueron ilustradas con MEB por Moy (1988) con material proveniente de Venezuela. En estas ilustraciones se observa un perisporio compuesto por groseras equinas, lo mismo que también han corroborado Tryon y Lugardon (1991) para ejemplares de Perú (= *C. catocarpa* (Kunze) C. V. Morton) y El Salvador (= *C. sloanei* (Poepp. Ex Spreng.) C. V. Morton). Las esporas aquí observadas de *C. ampla*, con material argentino, también presentan equinas groseras.

Dentro de las especies americanas con perisporio equinado analizadas con MEB por Tryon y Lugardon (1991) se encuentra *C. ampla* con material proveniente de El Salvador y Perú. En las ilustraciones mostradas por estos autores se puede apreciar que al igual que en las ilustraciones de esta tesis, las espinas son groseras y poseen una base ancha y que usualmente el ápice se quiebra dejando entrever que su interior es hueco. Sin embargo, Tryon y Lugardon (1991) denominan “tubérculo” a la base de la espina sin ápice, lo que podría deberse a la apariencia redondeada de la grosera base de la espina sin ápice y podría interpretarse como un tubérculo perforado, pero esto es incorrecto. Las ilustraciones de *C. ampla* de esta tesis muestran equinas irregulares y groseras, semejantes a las que Tryon y Lugardon (1991) muestran para otras especies equinadas de América Central y Colombia, tales como *C. hirta* y *C. nigrovenia* (Christ) Copel., respectivamente.

4.1.2. ESPORAS RUGADAS

Algunos trabajos florísticos sudamericanos realizados en los últimos años incluyen en su estudio el análisis de esporas. En Brasil se han llevado a cabo la mayoría, caracterizando a nivel de familia (García y Salino, 2008) o a nivel de género, en este caso particular, de *Ctenitis* (Viveros y Salino, 2015, 2017; Viveros et al., 2018). Sin embargo, son breves menciones o descripciones muy escuetas que expresan solo una pequeña parte de los valiosos caracteres palinológicos, los cuales son considerados caracteres con valor diagnóstico para la identificación a distintos niveles taxonómicos (Brown, 1960; Wagner Jr., 1974; Moran et al., 2007).

Las descripciones de 2 nuevas especies de *Ctenitis* para Sudamérica realizadas por Viveros y Salino (2015) muestran ilustraciones con MEB de las esporas de *C. christensenii* R. S. Viveros & Salino y *C. glandulosa*. Las esporas de la primera presentaron pliegues en apariencia comprimidos y con forma de asa de acuerdo a la ilustración, semejantes a los hallados en esta tesis para *C. submarginalis*. Mientras que las esporas de *C. glandulosa*, de acuerdo con Viveros y Salino (2015), presentaron pliegues groseros, coincidiendo con la descripción de Viveros et al. (2018).

La revisión taxonómica más completa del género *Ctenitis* en América del Sur fue realizada por Viveros et al. (2018), incluyendo entre los caracteres analizados a las esporas de 21 especies, englobando a todas las que habitan y se distribuyen dentro del Cono Sur (16). Sus observaciones incluyeron ilustraciones con MEB, sin embargo, caracteres cualitativos y cuantitativos importantes no fueron tenidos en cuenta, tales como el color o el tamaño de las esporas.

Viveros et al. (2018) afirman que las esporas rugadas poseen pliegues groseros y presentan también tubérculos que pueden variar de pequeños a grandes, como en *C. megalastriformis* R. S. Viveros & Salino, lo que concuerda con lo mencionado por Viveros y Salino (2017). Sin embargo, otras especies rugadas analizadas aquí, como *C. bigarellae* y *C. submarginalis* carecen verdaderamente de pliegues groseros, y el perisporio presenta más bien pliegues cortos, inflados, subglobosos o con forma de asa y tan solo algunos alargados. Otros casos son *C. aspidioides* y *C. nervata* que a diferencia del análisis de Viveros et al. (2018), las esporas aquí observadas presentan pliegues muy alargados (7-31,9 μm y 5,9-24,8 μm , respectivamente). Otras esporas con pliegues groseros dentro del género analizadas en esta tesis pertenecen *C. eriocaulis* y *C. paranaensis*.

Por otro lado, las esporas con perisporio rugado que describen Tryon y Tryon (1982) poseen pliegues que pueden ser inflados, con alas prominentes o estructuras sacadas como en *C. submarginalis*. Por su parte, Tryon y Lugardon (1991) ilustraron con MEB solo a 2 especies con esporas rugadas, *C. velata* R. M. Tryon & A. F. Tryon de Cuba y *C. submarginalis* de Brasil. Las observaciones realizadas por estos autores se asemejan con lo observado para los ejemplares analizados aquí para el Cono Sur de América.

Asimismo, el único análisis con MO para especies rugadas previo al realizado en esta tesis fue llevado a cabo por Lebrão et al. (2014) para 3 especies de *Ctenitis* del centro de Brasil, pero que también se distribuyen al sur de este país, habitando dentro del Cono Sur: *C. aspidioides*, *C. distans* y *C. falciculata*. Su estudio constató que el perisporio presenta grandes pliegues. *C. falciculata* presenta pliegues principalmente comprimidos o inflados y cortos y con forma de asa que difieren considerablemente con los aquí hallados, asemejándose a lo observado para las esporas de *C. bigarellae* y *C. submarginalis* en esta tesis.

4.1.3. SUPERFICIE DEL PERISPORIO

Tryon y Lugardon (1991) sostienen que las esporas rugadas del género *Ctenitis* pueden presentar una superficie finamente reticulada. Sin embargo, ninguna especie de *Ctenitis* del Cono Sur de América aquí observadas presenta una superficie finamente reticulada. Las restantes especies de Sudamérica analizadas por Viveros et al. (2018) tampoco presentan este patrón.

De acuerdo a Moran et al. (2018), los gránulos son depósitos irregulares, pequeños y bajos que pueden verse en la superficie del perisporio. Tryon y Tryon (1982) mencionaron que la superficie de las esporas del género *Ctenitis* es “casi lisa”. Esto puede dar lugar a la interpretación de que depósitos del tipo granular han sido observados por estos autores. Esta inferencia se basa en que la superficie de las esporas está formada por un tipo de depósito particulado que puede ser denominado granuloso (Tryon y Lugardon, 1991) o escabrado (Lellinger, 2002; Punt et al., 2007). Este tipo de superficie fue observado en muchas de las especies analizadas aquí, con la excepción de *C. ampla*. Además, varía principalmente dentro de la misma espora, ya que este depósito particulado es más grosero entre los pliegues mientras que en la superficie de los pliegues, el grosor de este particulado es menor.

Tryon y Lugardon (1991) ilustran que las bases de las espinas de *C. hirta*, con material proveniente de Jamaica, se conectan a través de cordones. En las esporas observadas aquí de *C. ampla*, con material de Argentina, estos cordones pueden estar presentes o no. De esta manera, en la superficie de las esporas equinadas la coalescencia o no de las bases de las espinas parece ser una característica variable en especies americanas.

4.1.4. COLOR DE LAS ESPORAS

El color de las esporas del género es una característica no mencionada por ninguno de los autores en trabajos previos. Lebrão et al. (2014) ilustran con MO las esporas acetolizadas de 3 especies de *Ctenitis* del centro de Brasil, donde se observa que son de color castaño claro. De todas formas, la mayoría de las especies que habitan el Cono Sur rondan el castaño o castaño claro salvo *C. bigarellae*. Esta especie posee esporas de color castaño oscuro y presenta pliegues subglobosos distribuidos regularmente, un conjunto de caracteres único dentro de las especies de *Ctenitis* en el Cono Sur.

4.1.5. LAS ESPORAS Y EL GRADO DE DIVISIÓN DE LA LÁMINA

En el estudio aquí llevado a cabo, se observó que las esporas de *Ctenitis* del Cono Sur poseen 2 grandes tipos de escultura, el tipo rugado y el tipo equinado. Esta característica también fue observada por Christensen (1913, 1920) para las especies tropicales americanas y por Viveros et al. (2018) para todas las especies sudamericanas del género.

Estos patrones de ornamentación son congruentes, prácticamente en su totalidad, con el grado de división de la lámina en las especies neotropicales. Las especies sudamericanas con esporas equinadas son también las que poseen láminas con mayor grado de división (2-4-pinnado-pinnatífidas), incluyendo a *C. ampla* y exceptuando a *C. nigrovenia*, que posee un lámina 1-pinnado-pinnatífida (Viveros et al., 2018). Mientras que las especies con esporas plegadas son las que se encuentran en especies con láminas de menor grado de división (1-pinnado-pinnatífidas).

De acuerdo a Christensen (1913, 1920), estas congruencias entre la escultura de las esporas y el grado de división de la lámina también se reflejan en otros caracteres del esporofito, como las escamas, tricomas del rizoma y ejes y detalles de la venación. No obstante, el análisis aquí llevado a cabo y a partir de lo observado por Viveros et al.

(2018), no se han encontrado relaciones entre las escamas y venas con el grado de división de la lámina en las especies sudamericanas.

Según Holttum (1983) dentro de las especies de *Ctenitis* que habitan las Islas Mascareñas hay dos grandes grupos que corresponden a secciones basadas en grupos propuestos por Christensen (1920). El primer grupo de especies perteneciente a la sección *Ctenitis*, corresponde a especies con láminas 1-pinnado-pinnatífidas y cuentan con esporas que poseen pliegues gruesos e irregulares. Mientras que las especies del segundo grupo, pertenecientes a la sección *Subincisae* Tindale, son especies con láminas 2-4-pinnado-pinnatífidas y cuentan con esporas con espinas cortas. Una situación semejante ocurre para las especies de *Ctenitis* del Sudeste de Asia, Malasia y las islas del oeste del Océano Pacífico. Para esta región, Holttum (1985) también afirmó que las especies del género se diferencian en 2 grupos naturales bien distinguibles y que las esporas comparten el mismo patrón, las especies que contienen esporas con pliegues anchos pertenecen a las que presentan una lámina con menores grados de división, mientras que el otro grupo se compone de especies con esporas equinadas y láminas con un grado de división igual o superior al 2-pinnado.

Al Igual que Christensen (1913, 1920) y Viveros et al. (2018) para las especies americanas, Holttum (1985) consideró que la morfología de las esporas es un carácter sustancial y congruente con otros dentro del esporofito, tales como las escamas de los ejes, siendo estos caracteres diagnósticos para los dos grupos naturales entre las especies de *Ctenitis* en el sudeste asiático.

Sin embargo, el único estudio que no comparte esta correspondencia entre el grado de división de la lámina y la morfología de las esporas es el realizado por Zhang et al. (2013) para China. Estos autores indican que todas las especies analizadas (10) poseen un grado de división de la lámina superior a 2-pinnado (2-4-pinnado-pinnatífidas) y que las esporas no muestran un patrón e indistintamente son equinadas como plegadas.

En lo que respecta a las especies que habitan dentro del Cono Sur, la relación entre la morfología de las esporas y el grado de división de la lámina ha sido confirmada en este estudio. De esta manera, la escultura de las esporas puede ser considerada como un carácter diagnóstico dentro del género *Ctenitis*, evidenciando grupos naturales de especies.

4.2. MORFOLOGÍA DE LAS ESPORAS DE *DRYOPTERIS*

En base a la macroornamentación del perisporio del género *Dryopteris* se reconocen 2 tipos principales: el tipo rugado y el tipo equinado. En el área de estudio, el Cono Sur de América, no se registran especies con esporas del tipo equinado. La condición más común y la que podría considerarse plesiomórfica corresponde al tipo rugado (Lee y Park, 2014). Por su parte, el tipo equinado observado en las esporas de *D. formosana* (Christ) C. Chr. y *D. sabaei* (Franch. & Sav.) C. Chr. está compuesto por espinas de lados paralelos y cuyo ápice puede ser romo (Lee y Park, 2014) o crestado-equinulado (Mitui, 1972; Tryon y Lugardon, 1991) lo que podría considerarse una autapomorfía dentro del género.

Para las esporas rugadas de América del Norte, Crane (1953) afirmó que están compuestas de 3 tipos de pliegues de acuerdo a su tamaño relativo. Los pliegues grandes o también llamados alas (Crane, 1960) que en esta tesis se observaron en los bordes de la espóra en vista ecuatorial, principalmente en *D. filix-mas* y *D. wallichiana*; los pliegues medianos que poseen contorno redondeado o angulares y son los que forman la principal ornamentación en el cuerpo de la espóra; y por último los pliegues suplementarios a los que incorrectamente muchos autores han denominado tubérculos (Crane, 1956, 1960; Britton, 1972a, 1972b; Tryon y Tryon, 1982; Tryon y Lugardon, 1991; Pérez-García et al., 1999, 2001; Ivanova, 2004; Narváez et al., 2008; Roux, 2011, 2012; Lee y Park, 2014; Prado et al., 2014).

Por su parte, Lee y Park (2014) reconocieron 3 tipos morfológicos de perisporio para las especies coreanas del género. Los 3 tipos fueron rugado, equinado y espinoso. El tipo rugado concuerda con lo aquí observado y con lo mencionado por otros autores (Tryon y Lugardon, 1991; Mitui, 1972). El tipo equinado que mencionan Lee y Park (2014) se basa en las esporas de *D. expansa*. El detalle más importante de estas esporas corresponde a sus espínulas que cubren gran parte de la superficie del perisporio y son inferiores a los 2 μm de altura (Ekrt et al., 2010). Dado que las esporas de esta especie, al igual que las de *D. dilatata* aquí observadas, presentan pliegues como elementos de la macroornamentación, corresponden al tipo rugado y no al equinado. Por último, el tipo espinoso se basó en las esporas de *D. formosana*, cuya ornamentación se compone de espinas de lados paralelos y ápice romo. Mitui (1972) y Tryon y Lugardon (1991) han analizado las esporas también de *D. formosana* y las de *D. sabaei*. Las ilustraciones de estas esporas muestran que las espinas poseen un ápice crestado-equinulado, a diferencia de lo observado e ilustrado por Lee y Park (2014).

Además de la macroornamentación, en esta tesis se observó que la microornamentación u ornamentación secundaria otorga una gran variabilidad dentro de los caracteres palinológicos en el género *Dryopteris*. Mitui (1972) reconoció cuatro tipos secundarios de ornamentación en el perisporio luego de analizar 45 taxones japoneses. Los tipos reconocidos fueron reticulado, escamosamente reticulado, granulado y espinulado. En cambio, Lee y Park (2014) aseguran que la superficie del perisporio rugado en las esporas coreanas del género exhiben 3 tipos de patrones: reticulada, granulada y lisa. En esta tesis se hallaron también 4 tipos de patrones, el reticulado, el equinulado, el rugulado y el rugulado-foveolado, siendo este último novedoso para el género.

Con los caracteres principales que pueden ofrecer las esporas del género *Dryopteris* y algunos caracteres adicionales, ya sean palinológicos propiamente dichos o no, varios autores han realizados claves para diferenciar distintos grupos de especies del género *Dryopteris* (Reed, 1952; Crane, 1960; Belling y Heusser, 1974; Lee y Park, 2014). Los caracteres palinológicos más utilizados para la confección de claves son: tipo ornamental, tamaño relativo de la espora (pequeño/mediano/grande), longitud de la lesura, patrón de superficie, presencia/ausencia de espínulas, tipo de ápice de las espínulas, cantidad relativa de pliegues/alas, tamaño de los pliegues (ancho/largo), forma de los pliegues (lineal, curvo, sinuoso, Y-, T-, I-), regularidad/irregularidad de los pliegues, densidad de pliegues, contorno de los pliegues, contorno de la espora. Mientras que otros caracteres como la cantidad de esporas por esporangio, indumento del esporangio, indumento, forma, contorno y color del indusio también han sido usados en estas claves.

Estos caracteres del perisporio obtenidos a través de diferentes herramientas son muy útiles, tal como lo afirma Mitui (1972) para ayudar a determinar las relaciones dentro del género. Además, las características palinológicas cualitativas tales como la macro y la microornamentación y el color de las esporas, observadas en esta tesis, son valiosas herramientas a la hora de diferenciar las especies del género *Dryopteris* que habitan el Cono Sur de América.

4.2.1. ESPORAS RUGADAS

De acuerdo a las observaciones realizadas en diversos estudios (Crane, 1960; Tryon y Lugardon, 1991; Lee y Park, 2014), y considerando el aquí realizado, el tipo rugado se compone de pliegues huecos que varían considerablemente en morfología. Estos pliegues pueden ser cortos, largos, simples o lobulados, lineales, curvados, en forma de Y, T o I,

ramificados irregularmente, a veces sinuosos o en zigzag, inflados o irregularmente circulares en contorno, generalmente con ápice redondeado e incluso pueden llegar a formar areolas completas o incompletas.

De acuerdo con los datos de Lee y Park (2014), el tipo rugado se produce en todos los linajes reconocidos por Zhang et al. (2012). Estos resultados sugieren fuertemente que es el tipo de perisporio más común encontrado en el género *Dryopteris*. Además, el tipo rugado ocurre en taxones de géneros estrechamente relacionados, como *Lithostegia* Ching y *Arachniodes* Blume (Nayar y Devi, 1964; Tryon y Lugardon, 1991; Liu et al., 2007; Zhang et al., 2012). La ocurrencia del tipo rugado en la mayoría de los linajes en el género *Dryopteris*, así como en géneros estrechamente relacionados, sugiere que este tipo de macroornamentación probablemente represente la condición plesiomórfica en el género.

El análisis palinológico más completo del género *Dryopteris* fue llevado a cabo por Tryon y Lugardon (1991) quienes examinaron esporas de 54 especies provenientes de Asia, África, Europa y América. Sus estudios muestran que el perisporio se compone de pliegues, pero el tamaño y la forma de estos pliegues son irregulares y varían desde crestas gruesas e infladas hasta, lo que los autores erróneamente denominan, tubérculos cortos. Pues como ya se ha mencionado, los pliegues pequeños y redondeados tienen apariencia de tubérculo, pero no lo son, ya que no son huecos.

En las regiones tropicales de África y Asia, las esporas de *Dryopteris* presentan una gran variabilidad en cuanto a la morfología de los pliegues del perisporio. Tal es así que Lee y Park (2014) analizaron las esporas rugadas de 25 taxa de Corea con MEB, mostrando que los pliegues del perisporio pueden ser cortos a largos, simples, lobados, ramificados, circulares o no y de ápice generalmente redondeado. La morfología y variedad de los pliegues observados en las esporas de *Dryopteris* en esta tesis concuerda con lo mencionado por Lee y Park (2014).

Por su parte, en sendos estudios florísticos llevados cabo en Madagascar e islas vecinas del Océano Índico (Roux 2011) y al sur del Sahara en África continental (Roux 2012) se incluyeron una breve mención acerca de las esporas de *D. wallichiana*. En estos estudios, las esporas de esta especie fueron descritas como rugadas y regulares. Mientras que para la India, Fraser-Jenkins (1989) las describe como algo irregulares dada su condición de triploide apogámico obligado (Loyal, 1960; Mehra y Loyal, 1965; Gibby, 1985). En esta tesis, la morfología de las esporas de *D. wallichiana*, es similar a la

mencionada por Roux (2011, 2012) y también han sido halladas esporas irregulares, coincidiendo de esta manera con lo mencionado por Fraser-Jenkins (1989).

Por otro lado, Crane (1956), Wherry (1961) y Britton y Jermy (1974) han mencionado la variabilidad interna de las esporas de *D. filix-mas*. Las esporas de esta especie proveniente del este de América del Norte poseen patrones de pliegues similares a las de Europa, mientras que las esporas de ejemplares del oeste de América del Norte son diferentes en cuanto a la morfología de sus pliegues. Sin embargo, Widén y Britton (1971) realizaron un análisis cromatográfico y concluyeron que los ejemplares de *D. filix-mas* provenientes del este de América del Norte son diferentes a los ejemplares de Europa, y aunque coinciden químicamente, estos autores afirman que hay algunas diferencias evidentes en la morfología de las esporas entre las poblaciones orientales y occidentales de América del Norte.

Tal es la dificultad de diferenciar las esporas de las especies rugadas de América del Norte que Crane (1956) estableció que los caracteres de las esporas no son diagnósticos para estos taxones. La estrecha similitud de las esporas de *D. filix-mas*, *D. marginalis*, *D. fragrans* y *D. arguta* se demuestra claramente por los caracteres del perisporio que poseen en común. Las esporas son de color castaño claro o castaño, las superficies y bordes del perisporio son lisos y los pliegues son generalmente pequeños y numerosos, que pueden estar dispersos o muy densos. Concluyendo así que las esporas de estas especies muestran similitudes sorprendentes y que tal vez el tamaño sea un factor determinante. No obstante, las esporas de *D. filix-mas* analizadas en este estudio, presentan una superficie reticulada, a diferencia de lo mencionado por Crane (1956).

Crane (1960) confeccionó una clave dicotómica con caracteres palinológicos para diferenciar las especies norteamericanas entre las cuales incluyó a *D. filix-mas*. De acuerdo con esta clave, las esporas de *D. filix-mas* poseen pocos pliegues, pequeños, redondeados y bastante separados entre sí. Sin embargo, la variabilidad observada en esta tesis para esta especie es alta, ya que la cantidad, tamaño, densidad y morfología de los pliegues son relativos. Así, a diferencia de lo que propone Crane (1960), las esporas aquí observadas de *D. filix-mas* pueden presentar pocos o muchos pliegues, pueden ser pequeños o grandes, pueden estar muy cercanos o alejados unos de los otros y pueden ser redondeados o lineares, sinuosos e incluso ramificados.

La especie *D. filix-mas* es ampliamente distribuida y sus esporas han sido analizadas en Norteamérica (Crane, 1960; Wagner Jr. y Hagenah, 1962; Britton y Jermy, 1974), en Europa (Tryon y Lugardon, 1991; Ivanova, 2004) y en Asia (Gibby, 1985; Fraser-Jenkins,

1989) teniendo en cuenta que las características analizadas en estos estudios son algo variables. Esta variabilidad se refleja en la diversidad y tipo de pliegues observados en distintas regiones, sumado a la variación del tamaño.

En Sudamérica, muchos de los estudios que describen a las esporas del género son florísticos y no aportan datos palinológicos muy relevantes más que meras características de la ornamentación de las esporas. Así, Tryon y Stolze (1991) mencionan que las esporas del género para Perú pueden ser rugadas o crestadas, similar a lo que Nee (2010) observaron sobre las esporas de las especies bolivianas de *Dryopteris*, agregando que pueden ser crestadas, sacadas o espinulosas. Mientras que Kessler et al. (2018), también para Bolivia, asegura que las esporas del género son rugosas o aladas. Desafortunadamente ninguno de estos 3 últimos estudios florísticos mencionan mayores características sobre las esporas en sus respectivas regiones fuera del Cono Sur.

Asimismo, un estudio florístico llevado a cabo en Brasil por Prado et al. (2014) incluyó en su análisis, ilustraciones con MEB de 3 especies de *Dryopteris*, 2 de las cuales habitan en el Cono Sur. Las esporas de *D. patula* y *D. wallichiana* fueron descritas como rugosas con pliegues largos y anchos, similar a lo observado en esta tesis, mientras que las de *D. huberi* (Christ) C. Chr. fueron descritas como rugosa-tuberculadas, con anchos pliegues y crestas superficiales finas. Este patrón de crestas finas en la superficie del perisporio de *D. huberi* sirvió como uno de los caracteres en la confección de una clave para diferenciar las especies. Además, este tipo de superficie es también observable en las esporas de *D. wallichiana* aquí estudiadas. No obstante, las esporas de *D. wallichiana* no fueron ilustradas por Prado et al. (2014). En las esporas de *D. wallichiana* analizadas en esta tesis, estas crestas superficiales observables con MEB, en algunos casos se anastomosan y pueden formar aréolas completas o no.

Por su parte, los estudios palinológicos del género dentro de Sudamérica son escasos. En el estudio realizado por Tryon y Lugardon (1991) muestran que las esporas de las especies sudamericanas son básicamente uniformemente rugadas. En este mismo sentido, las esporas de las especies analizadas en esta tesis, que corresponden al Cono Sur de América son rugadas. Murillo y Bless (1978) describieron e ilustraron con MO las esporas de *D. wallichiana* para Colombia, coincidiendo tanto en tamaño como en la escultura con lo hallado aquí. Tryon y Lugardon (1991) ilustraron con MEB las esporas de *D. saffordii* C. Chr. para Perú y *D. patula* y *D. wallichiana* para México. Estas especies son descritas por los autores como rugadas con pliegues o tubérculos inflados y con una superficie compuesta de crestas finas, semejantes a las observaciones realizadas en esta

tesis, con la salvedad previamente mencionada de que los tubérculos a los que se refieren estos autores, corresponden en realidad a pliegues pequeños, cortos e inflados.

Por último, para Argentina, de la Sota et al. (1998) es el único estudio, incluyendo florísticos y palinológicos, dentro del Cono Sur de América que menciona las esporas de *D. filix-mas*. Allí se las describe acorde con lo observado en este estudio, con pliegues inflados y cortos. No obstante, los pliegues asociados a la lesura aquí observados, apreciables en vista ecuatorial y vista polar proximal, es una característica no mencionada por otros autores hasta ahora. Es evidente la variación morfológica de los pliegues de esta especie si se comparan los ejemplares norteamericanos (Crane 1960) con los analizados en esta tesis, en la cual se analizaron ejemplares argentinos. Las esporas de *D. filix-mas* aquí observadas presentan muchos pliegues pequeños, densos, globosos y hasta con contorno estrellado en el cuerpo de la espora y algunos pliegues lineares y más alargados en los bordes en vista ecuatorial.

Las esporas de *D. wallichiana* provenientes de Salta, en el noroeste argentino, fueron estudiadas por Narváez et al. (2008). En ese estudio, las esporas de la especie fueron descritas como ruguladas con muros anchos y redondeados, usualmente anastomosados formando areolas, tal cual fue observado en esta tesis. No obstante, a pesar de que la mayor parte de la descripción concuerda con la efectuada en este estudio, estos autores optaron por utilizar el término “muro”, mientras que la correcta definición es pliegue, pues estos elementos de la ornamentación son huecos y los muros son estructuras macizas.

4.2.2. SUPERFICIE DEL PERISPORIO

La superficie del perisporio de las esporas rugadas es muy variable. De acuerdo con Lee y Park (2014) son 3 los patrones observados: reticulado, granular y psilado. Mitui (1972) en cambio, propone 4 patrones, de los cuales, 2 comparte con Lee y Park (2014). De esta manera, los 2 patrones compartidos son reticulado y granular, mientras que los 2 restantes son equinulado y escamosamente reticulado. Por otro lado, Roux (2011) concuerda con Mitui (1972) en que algunos de los patrones de la superficie del perisporio pueden ser el reticulado y el equinulado, pero también menciona otros como el minuciosamente rugoso, el escabrado o el ruminado. De acuerdo con su definición, el tipo ruminado, es similar al escamosamente reticulado planteado por Mitui (1972) pero sin las microcrestas superficiales que forman el retículo. Belling y Heusser (1974) atribuye el

tipo escabrado como similar al granular y menciona al rugulado. El rugulado es lo que Roux (2011) plantea como minuciosamente rugoso.

En el presente estudio fue descubierto un tipo de microornamentación no mencionado anteriormente para el género. Las esporas de *D. patula* aquí analizadas presentaron una superficie compuesta de pequeñas rúgulas y también de pequeñas fóveas. La nueva combinación se describe como el tipo rugulado-foveolado. De esta manera, son 8 los tipos de microornamentación en la superficie del perisporio en las esporas rugadas del género *Dryopteris*: equinulado, granular/escabrado, reticulado, escamosamente reticulado, psilado, ruminado, rugulado y rugulado-foveolado.

Las 4 especies de *Dryopteris* aquí analizadas presentan un perisporio rugado, pero su gran fuente de variación se encuentra en la superficie del perisporio. Las esporas de *D. dilatata* presentan una superficie equinulada. En las esporas de *D. patula* se observan 2 tipos de superficies, la rugulada y la rugulada-foveolada. Por su parte, las esporas de *D. filix-mas* y *D. wallichiana* presentan una superficie reticulada.

Superficies no equinulada

En lo que respecta a la superficie del perisporio de *D. wallichiana*, Tryon y Lugardon (1991) muestran que las esporas analizadas por ellos para ejemplares mexicanos poseen un patrón reticulado, similar a lo observado aquí. A su vez, en las ilustraciones realizadas por estos autores para las esporas de *D. patula*, también de México, se aprecia que presentan el tipo reticulado en su superficie. No obstante, las esporas de *D. patula* aquí analizadas, correspondientes al Cono Sur han presentado un patrón rugulado o rugulado-foveolado, pero no han presentado un patrón reticulado.

Estudios como los de Crane (1956), Nayar y Devi (1964) y Belling y Heusser (1974) han informado que la superficie del perisporio de las esporas de *D. filix-mas* es lisa. Sin embargo, tanto en este estudio, como en el de otros autores (Tryon y Lugardon, 1991; Ivanova, 2004), la superficie del perisporio analizada para esta especie no es lisa, sino que está constituida de pequeñas crestas que incluso pueden formar retículos completos o incompletos. Acorde a esta disimilitud, Britton y Jermy (1974) han mencionado que existe cierta versatilidad en la morfología del perisporio de esta especie, variando en la configuración de los pliegues y en la superficie del perisporio, que puede mostrar una red de retículos o no, tal como se ha observado en esta tesis.

Superficie equinulada

Las esporas de las especies del subgénero *Dryopteris* que corresponden a la sección *Lophodium* descrita por Fraser-Jenkins (1986), poseen una morfología aparentemente única dentro del género (Ekrt et al., 2010). Estas esporas muestran una escultura rugada formada por unos pocos pliegues grandes pero lo que las hace únicas dentro del género es que poseen una superficie minuciosamente espinulada. Una característica morfológica que es considerada por Zhang et al. (2012) como una sinapomorfía de este grupo, que forma un linaje bien soportado dentro del género.

Varios son los complejos de especies dentro de esta sección *Lophodium* y las esporas, han sido una característica que han tenido en cuenta a la hora del análisis diversos autores (Walker, 1955; Britton, 1962, 1968, 1972a, 1972b; Crabbe et al., 1970; Gibby y Walker, 1977; Piękoś-Mirkowa, 1977, 1991; Juslén et al., 2011; Rünk et al., 2012). El complejo de *D. dilatata* cuenta con alrededor de 10 especies (Gibby, 1983), y están distribuidas en Europa y América del Norte. De las diez especies del complejo, la mitad son diploides y la otra mitad son tetraploides. Diversos autores han analizado las esporas de esta especie y de algunas otras relacionadas en diferentes regiones llegando a resultados variables en cuanto a las características palinológicas que a continuación se detallan.

Britton (1962, 1968, 1972a, 1972b) analizó con MEB las esporas de varias especies del género *Dryopteris* en América del Norte. Observó que las esporas equinuladas son muy semejantes en cuanto a características morfológicas. Sin embargo, caracteres como el tamaño de la spora y la escultura del esporodermo ayudan a diferenciar muy bien las esporas rugadas que no poseen equínulas. Sin embargo, las esporas del complejo de *D. spinulosa*, que incluye 5 especies entre las cuales está *D. dilatata* (Britton, 1972a), presentan espínulas y éstas parecen ser el factor de separación entre las especies. De esta manera, la longitud, la densidad y el tipo de ápice son los caracteres que pueden usarse dentro del complejo para diferenciar las especies. Sin embargo, estos caracteres no parecen ser muy fiables ya que no son constantes en todos los ejemplares presentados por el autor.

En contrapartida, especies muy relacionadas al complejo pero que habitan en Europa y estudiadas por Crabbe et al. (1970) muestran una diferencia sustancial con los resultados propuestos por Britton (1968, 1972a, 1972b). El complejo de especies en Gran Bretaña consta de dos alotetraploides, *D. dilatata* y *D. carthusiana* y un diploide, *D. assimilis* S. Walker. La escultura del perisporio de *D. assimilis* difiere de la de *D. dilatata*

y *D. carthusiana* en densidad, forma y tamaño de las proyecciones, ya que su perisporio está cubierto por 10-25% con espínulas de ápice romo que rara vez están lo suficientemente cerca como para unirse en sus bases. El análisis realizado en esta tesis concuerda con lo propuesto por Crabbe et al. (1970) para *D. dilatata*, cuya superficie está cubierta en un gran porcentaje (más del 50%) por espínulas subcónicas, la mayoría de las cuales se tocan y se unen hacia sus bases. Asimismo, de acuerdo a estos autores, las diferencias entre las esporas de *D. carthusiana* y *D. dilatata* son muy sutiles y su apreciación se basa en suposiciones de que las esporas de la primera son más rugosas y las proyecciones más cortas en relación con su ancho, muchas formando papilas redondeadas en lugar de espinas, pero estas diferencias carecen de un criterio sustancial.

De acuerdo a Rünk et al. (2012), tanto *D. dilatata*, como *D. expansa* y *D. carthusiana* tienen esporas similares, elípticas, monoletas, con un perisporio plegado y cubierto de espínulas. Además, el tamaño de las esporas es muy variable. La especie más variable analizada por Rünk et al. (2012) es *D. dilatata* (38-70 μm) y presenta 32 μm de diferencia entre el máximo y el mínimo del diámetro ecuatorial mayor. Prácticamente corroborando esta última premisa, en el análisis de esta tesis, *D. dilatata* fue hallada también como la especie más variable dentro del género (37-59 μm), pero con 22 μm de diferencia entre el máximo y el mínimo.

Lee y Park (2014) analizaron las esporas con MEB de 27 taxones coreanos de *Dryopteris*, encontrando varios tipos de elementos esculturales siendo uno de ellos el tipo espinulado, basándose en la única especie de este tipo que habita en Corea, *D. expansa*. Las características analizadas corresponden a las encontradas por otros autores para la sección *Lophodium* (Fraser-Jenkins, 1986, 1989; Ekrt et al., 2010), cuyo perisporio presenta pliegues laxos en forma de ala, que pueden formar retículos, y una superficie repleta de espínulas cónicas, de 1 a 2 μm de alto, de ápice agudo. Estas características son en esencia las mismas que fueron observadas aquí para *D. dilatata*, sin embargo, la diferencia sustancial es el tamaño. Las esporas de *D. dilatata* superan en más de 15 μm a las de *D. expansa* (37-59 μm y 32-43 μm , respectivamente). En adhesión a esta diferencia, Viane (1986) propone que las esporas de especies diploides son más pequeñas que las de mayor nivel de ploidía. Bennert et al. (2012) ha corroborado que *D. dilatata* es tetraploide y *D. expansa* es diploide.

Ejemplares europeos de *Dryopteris* provenientes de Gran Bretaña, Escandinavia y Europa Central fueron analizados por Crane (1955) quién evaluó la morfología y tamaño de las proyecciones de aquellas especies, particularmente *D. dilatata* y *D. expansa*. Las

principales características cuantitativas que son motivo de diferencia entre estas 2 especies son el tamaño de las espinas y la densidad. Crane (1955) afirma que esas características son un criterio constante de discriminación. Según este autor las espínulas de *D. expansa* son diminutas, de ápice romo, 1 μm o menos de altura, y están más o menos espaciadas en la superficie del perisporio. En cambio, las espínulas de *D. dilatata* son más gruesas, de ápice agudo, irregulares, de hasta 2 μm y aglomeradas. Por lo tanto, de las observaciones de Crane (1955) sobre la morfología y densidad de las espínulas se puede concluir que son sustanciales para diferenciar a *D. dilatata* de *D. expansa*. Además, sugiere que es posible que ocurra una situación similar en América del Norte. No obstante en cuanto al patrón de densidad y morfología, estos resultados son acordes a los hallados aquí sobre *D. dilatata*. Asimismo, son congruentes con los obtenidos por Crabbe et al. (1970). Sin embargo, los datos aquí obtenidos sobre la longitud de las espínulas de *D. dilatata* varían de 0,45-1,66 μm de alto, dejando abierta la consideración de lo variable y lo poco fiables que puede ser una discriminación entre especies por tan solo 1 μm de diferencia, siendo caracteres tan poco constantes.

Debe resaltarse la importancia de la ornamentación del perisporio como uno de los caracteres más fiables para la identificación de las especies relacionadas a *D. dilatata*, tal como lo afirma Viane (1986). De acuerdo al análisis en MO y MEB realizado por diferentes autores (Crane, 1953, 1955, 1960; Britton, 1972a, 1972b; Crabbe et al., 1970), el perisporio de los miembros diploides de la sección *Lophodium* como *D. expansa* y *D. assimilis* difieren de los taxones tetraploides relacionados principalmente por la densidad de las espínulas, las cuales generalmente están bien espaciadas y sin base coalescente en los diploides. En cambio, en los tetraploides las espínulas están frecuentemente tocando sus bases, incluso, según Viane (1986) pueden formar un patrón reticulado, aunque esto último no ha sido observado aquí para las esporas de *D. dilatata*.

Por otro lado, una cuestión importante en estas especies, es la longitud de las espínulas, además de la densidad, la coalescencia de sus bases o no y la morfología del ápice. Considerando los estudios de Crane (1955), Crabbe et al. (1970) y el realizado aquí, la longitud de las espínulas es motivo de controversia. El valor crítico para diferenciar unas especies de otras ha sido de 1 μm , y siendo que las longitudes varían entre 0,45 y 2 μm , podría considerarse que estas medidas carecen de una gran variación. Para tal dimensión se sugiere entonces, un análisis estadístico que permita elucidar si la longitud de las espínulas es una variable significativa y constante que ayude a la discriminación de estas especies.

Consideraciones finales sobre la superficie del perisporio

Esta gran variación en la superficie de las esporas de las 4 especies aquí estudiadas puede deberse a que pertenecen a 4 secciones distintas dentro del subgénero *Dryopteris* (Fraser-Jenkins, 1986). Sin embargo, la única sección que presenta antecedentes en la que la superficie del perisporio es constante y única es la sección *Lophodium*, a la que pertenece *D. dilatata* con la superficie equinulada (Fraser-Jenkins, 1986). Por lo demás, no hay antecedentes previos que mencionen esta correlación entre las secciones y la superficie de las esporas de las especies a las que pertenecen. No obstante, la superficie reticulada aparece en las secciones *Dryopteris* y *Fibrillosae*, siendo también mencionada por Tryon y Lugardon (1991) para especies relacionadas a *D. patula* en México, pertenecientes a la sección *Cinnamomeae*. De esta forma, además de la superficie equinulada correspondiente a la sección *Lophodium*, solo la superficie rugulada-foveolada, hallada en este estudio, es única dentro de la sección *Cinnamomeae*.

4.2.3. COLOR DE LAS ESPORAS

De acuerdo a Crane (1956), las esporas de *D. filix-mas* y especies afines, sin acetolizar, son de color castaño a castaño claro. A diferencia de lo observado por Crane (1956), el color de las esporas de *D. filix-mas* analizadas en este estudio, tanto las muestras que han sido acetolizadas como las que no, son de color pardo-verdoso. Este color ha sido también mencionado por de la Sota et al. (1998) para ejemplares muestreados en la Patagonia argentina.

Tryon y Tryon (1982), Pérez-García et al. (1999, 2001) y Hernández-Hernández et al. (2009) estudiaron las esporas de ejemplares mexicanos de *D. patula* y *D. wallichiana* sin acetolizar, asegurando que su color varía de castaño a castaño oscuro. Las esporas aquí analizadas, tanto las que fueron acetolizadas como las que no, de *D. wallichiana* son de color castaño, mientras que las observadas por Narváez et al. (2008), también para ejemplares argentinos, y sin acetolizar presentaron un color castaño oscuro. Las esporas de *D. patula* aquí analizadas son de color castaño oscuro, al igual que lo mencionado por Hernández-Hernández et al. (2009).

Entre las características propuestas por Rünk et al. (2012) para discriminar las especies relacionadas a *D. dilatata* en Europa, propusieron el color de las esporas. Describen a las esporas sin tratamiento de *D. dilatata* de color castaño oscuro a negro, las

de *D. carthusiana* castaño a castaño oscuro, mientras que las de *D. expansa* son pálidas o castaño rojizo. Las esporas aquí analizadas de *D. dilatata* son de color castaño.

El color de las esporas en las especies aquí analizadas concuerda en algunas ocasiones con otros autores y en otras no. De las 4 especies analizadas, solo las esporas de *D. patula* son estables, lo que ayuda a identificarlas. Dentro del Cono Sur, el color y la ornamentación de las esporas son muy prácticas para diferenciar las especies. De esta forma, las esporas pardo-verdosas corresponden a *D. filix-mas*, las esporas castaño oscuro a *D. patula*, y las esporas de color castaño corresponden a *D. dilatata* y *D. wallichiana*. Asimismo, estas últimas especies se diferencian fácilmente por su ornamentación. El color es una característica muy práctica para diferenciar en primera instancia las esporas de las especies del género dentro del Cono Sur.

4.3. ULTRAESTRUCTURA

4.3.1. CTENITIS

Las esporas de *Ctenitis* analizadas con MET en esta tesis muestran que el exosporio es homogéneo, liso y está compuesto por 2 capas. El exosporio interno es muy delgado y más contrastado que el exosporio externo. Algunos canales fueron observados principalmente en el exosporio externo y que pueden finalizar en el exosporio interno. Sin embargo, ni Moy (1988) ni Tryon y Lugardon (1991) han observado estas estructuras en sus respectivos estudios. No obstante, Moy (1988) menciona que el exosporio es liso y que en la zona de la lesura se puede apreciar que se diferencian 2 áreas, una más clara y otra más oscura que podrían representar al exosporio externo e interno, respectivamente mencionado por Lugardon (1971).

El perisporio de *Ctenitis* aquí analizado se compone de 2 capas, diferenciables en grosor y contraste. El perisporio interno es el que forma los pliegues y el perisporio externo es la capa que tapiza parcial o totalmente las superficies internas y externas del perisporio interno. El perisporio puede formar 2 tipos de estructuras, los pliegues y las equinas. De acuerdo al análisis de Lebrão et al. (2014) con MO en esporas rugadas de *Ctenitis*, el perisporio consta de una sola capa, sin embargo, estas observaciones son poco precisas para describir la ultraestructura de las esporas. Por su parte, Tryon y Lugardon (1991) analizaron las esporas rugadas de *C. strigilosa* (Davenp.) Copel. con MET con material proveniente de México, y se puede apreciar al igual que en este estudio, que los pliegues están formados por el perisporio. Sin embargo, estos autores no mencionan las capas del perisporio y tampoco se aprecian en la ilustración. Por otro lado, Moy (1988)

ilustra con MET las esporas de *C. ampla* con material proveniente de Venezuela, dejando entrever que las equinas son estructuras del perisporio y son macizas. Este autor afirma que el perisporio en este tipo ornamental está formado por una sola capa. Cabe destacar que las ilustraciones con MEB analizadas en esta tesis y las realizadas por Tryon y Lugardon (1991) muestran claramente que las equinas de esta especie son huecas y no macizas.

De acuerdo a Moran et al. (2018), el término “microestructura” se refiere al material depositado en la superficie de la capa externa del perisporio. En este mismo sentido, Tryon y Lugardon (1991) describieron que pueden aparecer como 2 tipos: glóbulos o esférulas. Los glóbulos son cuerpos esféricos que pueden contener material tanto del exosporio como del perisporio. Mientras que las esférulas son pequeños cuerpos esféricos que consisten en material perisporal. Son indistinguibles con MO y MEB y su tamaño, forma y distribución en la superficie de la espora pueden ser los mismos. Asimismo, en esta tesis fueron observados con MEB cuerpos esféricos en *C. aspidioides* y *C. distans*, sin embargo, debido a que no se pudieron observar con MET, no se puede determinar si son glóbulos o esférulas.

4.3.2. *DRYOPTERIS*

Las esporas del género *Dryopteris* analizadas con MET en esta tesis muestran que el exosporio es liso, homogéneo y la pared más delgada, además, está diferenciada en 2 capas bien distinguibles por contraste y grosor. A diferencia de lo aquí observado, Tryon y Lugardon (1991) en sus ilustraciones con material proveniente de Francia, entre las que destaca *D. filix-mas*, no muestran las capas del exosporio.

Han sido observados canales simples y ramificados dentro de estas capas, tanto en el exosporio interno como en el externo, aunque las ramificaciones se han hallado únicamente en el exosporio interno. Este hallazgo es novedoso para el género, pues Tryon y Lugardon (1991) mencionan que el exosporio puede presentar canales radiales y transversales en el exosporio externo en las esporas de helechos, pero no mencionan al género *Dryopteris* y tampoco si éstos pueden ser ramificados o no. Sin embargo, estos autores ilustran canales simples en el exosporio semejantes a los aquí descritos pero solamente para una especie dentro de las Dryopteridaceae, *Cystopteris fragilis* (L.) Bernh.. Diversos autores han mencionado e ilustrado canales en diferentes capas del exosporio para diferentes géneros de distintas familias. Así, entre otros, Morbelli y Giudice (2005) observaron canales simples en diferentes niveles del exosporio de

Asplenium serra Langsd. & Fisch. (Aspleniaceae), Ramos Giacosa et al. (2009) hallaron canales radiales simples en *Blechnum auriculatum* Cav. y *B. brasiliense* Desv. (Blechnaceae) y Márquez (2018) observó canales simples en distintos niveles del exosporio de *Sphaeropteris horrida* (Liebm.) R. M. Tryon (Cyatheaceae).

Este tipo de exosporio, denominado exosporio blechnoide por Lugardon (1971) está caracterizado por una capa interna muy delgada y una externa que forma la mayor parte de la pared y es el tipo de exosporio más común entre las esporas de los helechos más evolucionados.

El perisporio es la pared que forma la ornamentación en las esporas de *Dryopteris*, y al igual que el exosporio, está compuesto por 2 capas diferenciables por contraste y grosor. Mientras el perisporio interno es la capa que constituye la ornamentación propiamente dicha, es decir, los pliegues, el perisporio externo es mucho más delgado y tapiza parcial o totalmente todas las superficies, tanto internas como externas del perisporio interno.

Tryon y Tryon (1982) y Tryon y Lugardon (1991) intentaron explicar la ultraestructura del género utilizando ilustraciones con MEB, aunque a través de una consideración errónea. Estos autores sugieren que el perisporio está formado por dos estratos: el más interno, que es ligeramente rugoso y se ubica entre el exosporio y la capa externa, y esta última, que es el pliegue propiamente dicho, la cual conforma el segundo estrato. Sin embargo, es muy difícil distinguir las capas del perisporio tan solo con ilustraciones de MEB, por esta razón, en el análisis desarrollado en esta tesis, el estudio con MET permitió esclarecer la ultraestructura de estas esporas. Así, se puede argumentar que en base al estudio aquí realizado, el perisporio en las esporas rugadas de *Dryopteris* está compuesto por 2 capas de diferente contraste y grosor. El perisporio interno es más contrastado que el perisporio externo y es la capa que forma la ornamentación propiamente dicha, mientras que el perisporio externo, es menos contrastado, mucho más delgado y recubre parcial o totalmente todas las superficies, tanto externas como internas de los pliegues. En tanto que al estrato rugoso que se aloja entre el exosporio y los pliegues propiamente dichos, destacado por Tryon y Tryon (1982) y Tryon y Lugardon (1991), es en realidad la parte basal del interior del pliegue y está conformado por las dos capas del perisporio, una característica imperceptible de apreciar con MEB.

Algunas ilustraciones realizadas con MET son mostradas por Tryon y Lugardon (1991) para esporas de 4 especies rugadas del género, todas con material de Francia. Las esporas de *D. sabaei* y *D. carthusiana* presentan pliegues y también espínulas. Estas

esporas son en apariencia semejantes a las de *D. dilatata* y en las ilustraciones presentadas por Tryon y Lugardon (1991) se observa que los pliegues son huecos y las espínulas son macizas. Tanto los pliegues como las espínulas son estructuras formadas por el perisporio y no se menciona si está compuesto o no por 2 capas, pero solo se observa una sola, más contrastada que el exosporio, que también aparenta tener solo 1 capa.

Los estudios llevados a cabo aquí son en base a las esporas rugadas de *D. patula* y *D. wallichiana*, con material de Argentina, mientras que Tryon y Lugardon (1991) muestran una ilustración de *D. filix-mas* de esporas provenientes de Francia. Estos autores señalan que por encima de la lesura hay una cresta compacta, mientras que en esta tesis se observa un pliegue supralesural en ambas especies analizadas. Es probable que el pliegue supralesural también se encuentre en *D. filix-mas*, pero debido tal vez a cuestiones metodológicas o técnicas no se llega a vislumbrar. Por otro lado, al igual que en las esporas espinuladas, no se observa y tampoco se mencionan las capas del perisporio que en *D. patula* y *D. wallichiana* se observan claramente. Las esporas del género poseen usualmente pequeños trozos de membrana (escamas) en el perisporio interno, muy cerca del exosporio externo, lo que concuerda con lo observado por Tryon y Lugardon (1991). En este estudio han sido observadas esférulas en la superficie del perisporio, cuya apariencia y textura se asemejan a las del perisporio. Estas estructuras no han sido reportadas previamente para el género, sin embargo, Ramos Giacosa et al. (2012) las mencionan para el género *Anemia* Sw. (Anemiaceae) y Márquez (2018) también las menciona para *Sphaeropteris* Bernh. (Cyatheaceae).

Queda demostrado, tal como lo afirma Gabarayeva et al. (2011), que los estudios ultraestructurales son una herramienta muy útil para comprender e interpretar correctamente el esporoderma de las esporas. Además es necesario complementar adecuadamente las 3 técnicas (MO, MEB y MET) para obtener una clara idea de la estructura y ultraestructura del esporoderma, de manera que se puedan evitar interpretaciones erróneas.

4.4. ABORTO, APOGAMIA Y POLIPLOIDÍA

4.4.1. CTENITIS

Pocos estudios citológicos han sido llevados a cabo para las especies de *Ctenitis*. Para las especies de Jamaica, Walker (1966, 1973) aseguró que las especies que allí habitan pueden ser diploides o tetraploides pero no manifiestan signos de hibridación. Un estudio llevado a cabo por Smith y Mickel (1977) corrobora que para México no se

registran híbridos del género *Ctenitis*. Un conteo cromosómico realizado para *C. ampla* en las Islas Galápagos realizado por Jarrett et al. (1968) confirmó que esta especie es diploide y que no hay signos de problemas en la esporogénesis. Algunos estudios realizados en India por Mehra y Verma (1957) y Bir (1996) certifican que las especies que allí habitan son diploides sexuales. De acuerdo con Tryon y Tryon (1982) el muestreo citológico del género en regiones como Nueva Zelanda, Sri Lanka y Japón también indica especies en su mayoría diploides y algunos tetraploides.

De acuerdo a Tryon y Lugardon (1991), algunas especies americanas como *C. submarginalis* que poseen diferencias de tamaño entre ejemplares provenientes de Brasil y Cuba, puede reflejar diferentes niveles de ploidía. Esto mismo también fue notado por Viveros et al. (2018) para *C. submarginalis* y *C. ampla*, pues son especies ampliamente distribuidas y con un esporofito morfológicamente muy variables, lo que podría deberse a diferencias altitudinales. Además, el tamaño excepcionalmente grande de esporas como las de *C. velata*, una especie que habita en el caribe, sugiere que puede representar niveles superiores de ploidía (Tryon y Lugardon, 1991).

Si bien son pocos los estudios llevados a cabo, hasta ahora no se informan híbridos dentro del género. No obstante, los esporangios analizados por Viveros et al (2018) para *C. abyssii*, *C. aspidioides*, *C. fenestralis* y *C. laetevirens* fueron hallados muy oscuros, atrofiados y abortados. Debido a esto, las esporas se visualizaron deformes o no fueron halladas. Sin embargo, estos autores afirman que solo algunos especímenes de *C. aspidioides* y *C. fenestralis* tenían esporas deformes, pero otros, tanto los esporangios como las esporas se veían normales. Para las especies analizadas en esta tesis, todos los especímenes analizados de *C. aspidioides* resultaron ser normales, con esporangios y esporas desarrolladas. Mientras que con *C. fenestralis* se corroboró lo informado por Viveros et al. (2018), que las esporas carecían de madurez, estaban deformes o abortadas, encontrándose solitarias o formando cúmulos. Asimismo, los especímenes aquí analizados de *C. laetevirens* carecieron por completo de esporas en sus esporangios atrofiados y negruzcos. Estas características de esporangios atrofiados y negruzcos o de esporas inmaduras, deformes o abortadas son típicas de taxones híbridos o con problemas de esporogénesis, un tópico en el que no se ha profundizado en el género. Sin embargo, en géneros hermanos como *Dryopteris* (Montgomery, 1982) y *Arachniodes* (Widén et al., 1981), los híbridos son recurrentes.

4.4.2. *DRYOPTERIS*

El término apogamia se usa principalmente para helechos y licofitas y se refiere a la formación de esporofitos a partir de células de gametofitos no reducidos que resultan de esporas no reducidas (diplosporas) sin ningún proceso sexual.

De acuerdo con los estudios de Manton (1950), las especies sexuales generalmente forman esporas buenas, los híbridos generalmente esporas estériles (predominantemente abortadas) y las especies apogámicas son conocidas por un espectro de esporas desequilibrado. Sin embargo, hay varias formas de cómo se forman las esporas en helechos apogámicos sexuales (Gastony y Windham, 1989). Se espera de los individuos apogámicos una mayor cantidad de esporas abortadas que las especies sexuales debido a los desequilibrios en la meiosis, tal como lo propuso Manton (1950). Los resultados propuestos por Hornych (2016) confirmaron esta hipótesis, donde los taxones apogámicos formaron esporas abortadas con mayor frecuencia (18%) que los taxones sexuales (3%).

De acuerdo con Ekrt y Koutecky (2016) este desequilibrio en la meiosis, también ocurre en los híbridos. De esta forma, los híbridos poseen alrededor de un 89-94% de esporas abortadas, por lo que resta un margen de 6-11% para que esas esporas sean fértiles. Esto se debe a la esporogénesis inestable con reproducción sexual y apogámica combinadas. Este desequilibrio genera un rango de esporas por esporangio que varía de 32 a 64. En general, un número diferente a 64 esporas por esporangio, permite inferir un desequilibrio en la esporogénesis. Entonces, corroborar el número de esporas por esporangio podría considerarse una herramienta útil para inferir problemas en la meiosis. Sin embargo, esta tarea no ha sido llevada a cabo en este estudio.

La mayoría de los helechos se reproducen sexualmente, sin embargo, Walker (1985) estimó que aproximadamente el 10% de todas las especies de helechos se reproducen asexualmente por apogamia. Estudios más recientes han corroborado que las familias Dryopteridaceae y Pteridaceae son las dos familias con mayoría de los taxones apogámicos (Liu et al., 2012). Por otro lado, ya dentro de las especies apogámicas, Lovis (1977) afirmó que entre el 50 y el 70% de las especies apogámicas son triploides. Estos números fueron avalados, al menos para el género *Dryopteris*, por Hirabayashi (1974), cuyo estudio citológico en casi 80 taxones japoneses del género, reveló que alrededor de la mitad de estos son triploides apogámicos. Mientras que Wood et al. (2009) estiman que la cantidad de helechos poliploides ronda el 31%.

Fraser-Jenkins (1989) también avaló la hipótesis de Lovis (1977), afirmando que *Dryopteris* es uno de los más grandes géneros de helechos en la India y que cerca del 48% de sus especies son poliploides y cerca del 41% son apogámicas.

Apogamia e hibridación en *Dryopteris*:

La apogamia es de gran interés para el género ya que al menos 58 especies de *Dryopteris* son apogámicas, lo que lo convierte en el género con más taxones apogámicos entre los helechos (Liu et al., 2012). Según los informes citológicos brindados por Tryon y Tryon (1982), las especies tropicales del género son principalmente diploides, como *D. patula*, mientras que *D. wallichiana* es una especie que puede tener citotipos diploides, triploides, tetraploides y hexaploides. Estas mismas especies han sido analizadas por Pérez-García et al. (1999, 2001). Ellos estudiaron el origen del esporofito en 12 especies mexicanas encontrando que la mayoría es de origen sexual, incluida *D. patula*. No obstante, otras especies como *D. munchii* A. R. Sm., *D. pseudofilix-mas* (Fée) Rothm. y *D. wallichiana* formaron esporofitos de forma apogámica. En este estudio, no se realizaron estudios para corroborar si las especies del género *Dryopteris* dentro del Cono Sur forman esporofitos vía sexual o apogámica, debido a que excedía los objetivos de esta tesis. Sin embargo, un estudio llevado a cabo por Narváez et al. (2008) con material proveniente del Noroeste de Argentina demostró que *D. wallichiana* es una especie con apomixis obligada.

Fraser-Jenkins (1986) postuló que la sección *Fibrillosae*, dentro del subgénero *Dryopteris* posee la mayoría de las especies apogámicas del género. Dentro de esta sección se encuentra *D. wallichiana* y muchas de las especies son aparentemente derivadas de esta especie o especies cercanas cuya morfología es muy semejante.

La hibridación de helechos apogámicos con taxones sexuales relacionados puede dar lugar a nuevos taxones apogámicos fértiles de niveles más altos de ploidía (Gastony y Windham, 1989). Esto fue corroborado por Ekrt y Koutecky (2016) para *D. filix-mas*, una especie tetraploide que originó híbridos pentaploides. Estos híbridos formaron mayormente esporas abortadas y también algunas viables.

Híbridos en *Dryopteris* y herramientas para reconocerlos

De acuerdo a Fraser-Jenkins (1986), el género posee cerca de 90 híbridos en todo el mundo. Según los estudios llevados a cabo por Montgomery y Poulton (1981), el género *Dryopteris* es el que posee mayor cantidad de híbridos en Norteamérica con

alrededor de 30. Pueden distinguirse de las especies fértiles por una característica: los híbridos de *Dryopteris* tienen esporas abortadas y a menudo los esporangios también.

Wagner Jr. y Chen (1965) afirman que se debe seguir una serie de pasos para detectar a los híbridos del género: (1) Reconocimiento de que la mayoría o todas las características de la planta en cuestión son intermedias entre las especies progenitoras. (2) Observación de que los soros contienen esporangios y esporas abortados. (3) Corroboración mediante un estudio citológico. Sin embargo, la morfología intermedia del esporofito del híbrido, sumado a otros factores como la no apertura y el color negruzco de los esporangios y en casos más extremos la no eversión del indusio han demostrado ser caracteres suficientes para reconocer hibridación (Barrington et al., 1989).

El estudio más completo del aborto híbrido en helechos fue realizado por DeBenedictus (1969). Este autor recopiló información sobre el desarrollo relativo de los esporangios, depósitos de materiales en la pared interna del esporangio, tamaños de las esporas, superficies de las esporas, desarrollo relativo del perisporio, pigmentación de las esporas, colapso de la pared, presencia y condición de los protoplastos y germinación. Varias combinaciones de estas diferentes expresiones de aborto producen una inmensa diversidad de síndromes abortivos.

En este sentido, a diferencia de DeBenedictus (1969), Wagner Jr. et al. (1986) proponen que algunos síndromes van de la mano con otros y no están completamente separados. Así, el colapso de las esporas puede ir de la mano con la pérdida del protoplasto. El desarrollo del perisporio inusualmente masivo a menudo ocurre junto con la reducción del tamaño de los protoplastos. Esto último se ha visto en varios ejemplares de *D. wallichiana* aquí analizados.

En consonancia con Wagner Jr. y Chen (1965) y Kanamori (1969), Wagner Jr. et al. (1986) propusieron las principales variables que caracterizan el aborto de las esporas.

Tamaño de esporangio: los procesos que alteran el desarrollo de las esporas influyen en la maduración de todo el esporangio. Puede haber esporangios aparentemente normales, a pesar de que las esporas en su interior son abortivas. Por lo tanto, no existe una correlación perfecta entre el aborto de las esporas y el aborto de los esporangios. Si bien uno de los objetivos de esta tesis era evaluar posibles señales de aborto, el estudio se enfocó principalmente en las esporas en sí, por lo que los esporangios no fueron una variable tenida en cuenta.

Depósitos en las paredes de los esporangios: a menudo muestran un desarrollo irregular del perisporio correlacionado con una deposición de glóbulos de material

oscuro. Aunque no se detecta un aborto per se, este fenómeno generalmente indica desequilibrios en la meiosis. Otros autores como Wagner Jr. y Chen (1965) y Hornykch y Ekrt (2017) también han mencionado estos depósitos, que en el análisis llevado a cabo aquí, no han sido hallados.

Tamaño de esporas: el tamaño de las esporas tiene dos componentes, la dimensión del protoplasto y dimensión de la pared. Las esporas abortadas muestran una variabilidad de tamaño mucho mayor que las esporas normales en relación al diámetro ecuatorial mayor. Asimismo, se observa una gran irregularidad, es decir, esporas inusualmente grandes y pequeñas. Ciertos ejemplares aquí analizados de *D. wallichiana*, presentaron un protoplasto pequeño y/o colapsado y esporas inusualmente irregulares en tamaño, ya sea demasiado grandes o muy pequeñas en comparación a las de forma arrañada.

Superficie: es una característica de juicio subjetivo para seleccionar e ilustrar las esporas "representativas" o "promedio". El problema con la mayoría de las muestras de esporas abortadas es su extrema variabilidad en todos los aspectos.

Pigmentación: las esporas abortadas a menudo son de color negro o marrón oscuro, tan fuertemente pigmentadas que es imposible detectar los contornos del protoplasto dentro. También se ha visto esporas de color opaco y brillante. Estos últimos caracteres se han observado aquí en ejemplares analizados de *D. patula* y *D. wallichiana*.

Colapso de esporas: torsión de toda la espora con múltiples depresiones. Está fuertemente relacionado con la muerte del protoplasto. También pueden encontrarse esporas esféricas como en *D. wallichiana*, o formando cúmulos.

Protoplasto: la cantidad y la naturaleza del almacenamiento de sustancias de reserva pueden modificarse o puede morir y ser absorbido. El tamaño de los protoplastos varía mucho en las esporas abortadas, llegando algunas veces a dimensiones notablemente pequeñas o grandes. La diferencia entre los protoplastos diminutos y los gigantes es producida por una segregación cromosómica desigual durante la meiosis.

Viabilidad de esporas: la prueba definitiva del aborto es la viabilidad. El porcentaje de esporas en apariencia abortadas que germinan puede ser inesperadamente alto (DeBenedictus, 1969). De acuerdo a Whittier y Wagner Jr. (1971), algunos híbridos de *Dryopteris* tienen germinación de hasta un tercio de las esporas sembradas, a pesar de la gran variabilidad en el tamaño y otros signos de aborto.

Rasgos abortivos en este estudio:

De acuerdo con Montgomery (1982), las esporas buenas y viables del género *Dryopteris* poseen una forma más o menos arriñonada y son de color castaño o castaño oscuro mientras que las esporas abortadas son muy irregulares en forma y tamaño, pueden ser de color negro, castaño brillante o pálidas. Si bien es verdad que en ciertas ocasiones se observan grandes pliegues irregulares en vista ecuatorial, que al MO parecen alas o crestas, como lo observado en *D. filix-mas* o *D. wallichiana*, Montgomery (1982) sugiere que estos pliegues pueden ser engañosos. A pesar de que estos pliegues sean irregulares, la forma en esporas no abortadas es arriñonada y todas poseen un tamaño relativamente parejo a diferencia de lo que ocurre con las esporas abortadas. Así, de acuerdo con lo argumentado por Montgomery (1982) y en concordancia con lo expuesto por Kanamori (1969), algunos ejemplares de *D. wallichiana* aquí analizados han presentado rasgos abortivos en sus esporas, como color castaño brillante y formas no arriñonadas.

Por otro lado, Hornyach y Ekrt (2017) hallaron resultados muy similares en *D. borrieri* V. I. Krecz. a los aquí observados para *D. wallichiana*, tales como esporas irregulares en forma y tamaño, y de color castaño brillante u opacas. Estos autores mencionan que *D. borrieri* es una especie triploide apogámica y que debido a esto presenta estos rasgos abortivos. Al parecer, no es solo una coincidencia, ya que Tryon y Tryon (1982) también señalan que *D. wallichiana* es una especie triploide apogámica. Sin embargo, Xiang et al. (2006) aseguran que se trata de un taxón tetraploide, por lo que al parecer, su ploidía es variable.

Pérez-García et al. (2001) y Hernández-Hernández et al. (2009) han analizado el desarrollo de la fase sexual de los gametofitos de *D. patula* y no han encontrado ningún tipo de irregularidad en las esporas, obteniendo esporofitos por vía sexual. No obstante, en el análisis llevado a cabo aquí, se han hallado ejemplares de *D. patula* con esporas globosas y de color castaño brillante, al igual que en *D. wallichiana*. Sin embargo, Narváez et al. (2008) observó esporas hialinas y sin protoplasto en *D. wallichiana*, características no observadas en este estudio.

Con estas consideraciones, y de acuerdo con lo propuesto por Wagner Jr. y Chen (1965) y Ekrt et al. (2010), las esporas abortadas pueden ser consideradas como una herramienta valiosa para la detección de híbridos o problemas inconsistentes en la esporogénesis, particularmente en el género *Dryopteris*.

Tipos de esporas abortadas

Según Ekrt y Koutecky (2016) dentro de un solo esporangio es posible detectar una mezcla de esporas abortadas, esporas reducidas bien desarrolladas y diplosporas no reducidas, lo que concuerda con lo propuesto por otros autores (Wagner Jr. y Chen, 1965; Galán y Prada, 2011; Zhang et al., 2013). De esta manera, un porcentaje variable de estas esporas no son viables y los especímenes podrían considerarse estériles o casi (Wagner Jr. y Chen, 1965; Reichstein, 1981).

Diversos autores encontraron una gran variabilidad en el tipo de esporas al analizar híbridos dentro del género *Dryopteris*. Ekrt y Koutecky (2016) detectaron tres tipos de esporas abortadas en especímenes europeos basados en su tamaño y contenido: esporas grandes bien desarrolladas, esporas pequeñas bien desarrolladas y esporas sin protoplasto, colapsadas y de forma irregular. Por su parte, Kanamori (1969) propuso una pequeña clasificación que también consta de 3 tipos de esporas estériles o abortadas para especímenes japoneses enfocado más bien en el tipo de división: 1) tipo enano y encogido: con estructuras arrugadas en el perisporio, este tipo es el más frecuente y el más numeroso, también es reportado en especies normales; 2) tipo de división irregular: consta de esporas de varios tamaños y formas que incluyen casos extremos de esporas trilete; 3) tipo de división imperfecta: aparecen diversas condiciones en donde una espора pequeña se está gestando de una más grande, semejante a una gemación. De las muestras aquí analizadas, los tipos 1 y 2 propuestos por Kanamori (1969) han sido hallados en especímenes de *D. wallichiana*, sin embargo, no se han notado casos extremos, solamente esporas pequeñas y encogidas y otras de gran tamaño. Esporas del tipo 3 no han sido halladas en este estudio.

De acuerdo con Wagner Jr. et al. (1986) no todo el aborto de esporas está asociado con la hibridación. Casi todas las muestras de esporas de especies normales muestran al menos 10-20% de esporas inviables. Hornych y Ekrt (2017) enfocaron su estudio justamente en una perspectiva semejante. Hallaron esporas abortadas en especímenes sexuales y en especímenes híbridos. En los especímenes viables, un pequeño porcentaje de esporas son abortadas y estas se ven pequeñas, irregulares, colapsadas y con colores más oscuros que las restantes viables como las halladas en esta tesis para algunos ejemplares de *D. patula*. Mientras que en los taxones híbridos analizados por estos autores, las esporas abortadas son completamente negras y varían mucho en tamaño, incluso a veces son mucho más grandes que las esporas viables. Además, una gran cantidad de pequeños agregados negros se encuentran dentro de los esporangios

analizados y dispersos alrededor de esporas abortadas de estos híbridos. Hallazgos similares han sido reportados por Wagner Jr. y Chen (1965) para *Dryopteris* en Norteamérica. Los híbridos estudiados por estos autores muestran que los esporangios cuentan en su interior con agregaciones más o menos numerosas de glóbulos de sustancia negruzca o marrón oscuro, incluso al observarse con iluminación brillante bajo el microscopio. Wagner Jr. y Chen (1965) teorizan que estos cuerpos negruzcos pueden ser probablemente esporas muy imperfectamente desarrolladas.

Sin embargo, los ejemplares con esporas abortadas aquí estudiados no han presentado estos pequeños agregados oscuros.

4.4.3. CONSIDERACIONES FINALES SOBRE APOGAMIA, HIBRIDACIÓN Y POLIPLOIDÍA

El género *Dryopteris* es bien conocido por su complejidad en la clasificación debido a su morfología muy variable y esto puede ser debido a la ocurrencia frecuente de hibridación, apogamia y/o poliploidización (Montgomery, 1982; Lee et al., 2006; Lee y Park, 2013; Liou y Wang, 2013). En consonancia, muchos complejos de especies han sido reconocidos y estudiados, como el complejo de *D. affinis* (Lowe) Fraser-Jenk. (Fraser-Jenkins, 2007; Ekrt et al., 2009; Schneller y Krattinger, 2010), el complejo de *D. varia* (L.) Kuntze (Lee et al., 2006; Lee y Park, 2013; Hori et al., 2014) y los complejos de *D. dilatata* y *D. filix-mas* por Manton y Walker (1954).

La hibridación, la apogamia y la poliploidización son procesos significativos para la especiación en helechos (Manton, 1950; Lovis, 1977; Gastony y Windham, 1989). Se sabe que aproximadamente el 20% de los helechos en América del Norte son de origen híbrido (Wagner Jr. y Smith, 1993), y al menos el 95% de las especies de helechos han sufrido poliploidización durante su historia evolutiva (Haufler, 1987).

Varios estudios filogenéticos moleculares en *Dryopteris* (Geiger y Ranker, 2005; Li y Lu, 2006a; Sessa et al., 2012a; Zhang et al., 2012) no respaldaron la monofilia de muchos grupos infragenéricos propuestos por Fraser-Jenkins (1986) en base a la morfología. Esta incongruencia entre los datos morfológicos y moleculares puede deberse en parte a estos procesos (Juslén et al., 2011; Sessa et al., 2012a, 2012b; Zhang et al., 2012).

4.5. SOBRE LA ACETÓLISIS

Prada (1990) ha realizado una revisión general y completa de diversos aspectos relacionados con las esporas de helechos. En su estudio menciona una variación de hasta 30% en el tamaño reportado para diversas especies dependiendo de la técnica empleada, siendo mayores los tamaños de las esporas en los trabajos en los cuales se aplica la acetólisis (Erdtman 1960), que en las reportadas sin esta técnica. En algunas especies como *Lophosoria quadripinnata* (J. F. Gmel.) C. Chr. (Pteridaceae) y *Polypodium villagranii* Copel. (Polypodiaceae) se observó la mayor variación de tamaños. Además, Nayar y Devi (1964) afirman que el proceso de acetólisis puede generar un incremento de tamaño en algunos géneros de helechos, especialmente en *Dryopteris*, donde las 2 especies estudiadas, incluyendo a *D. filix-mas*, incrementaron su tamaño entre un 35 y un 50 % del tamaño normal. Sin embargo, en las esporas de *D. filix-mas* aquí analizadas no se observaron diferencias entre las acetolizadas y las no acetolizadas

Prada (1990) menciona que dicha técnica puede provocar el desprendimiento, la fragmentación o la destrucción del perisporio, lo que en ocasiones dificulta la identificación de las especies. Britton (1972b) y Tryon y Lugardon (1991) también lo mencionan para esporas de *Dryopteris*, afirmando que genera desprendimientos, rupturas o fisuras en el perisporio si se las somete a un proceso de abrasión, tal como lo es esta técnica. De esta manera, son varios los autores que señalan que la técnica de acetólisis puede modificar el tamaño, la forma e incluso la ornamentación de, tanto las esporas como los granos de polen (Large y Braggins, 1991).

Si bien no lo menciona, Lebrão et al. (2014) trató a 3 especies de *Ctenitis* con la técnica de acetólisis y en reiteradas ilustraciones, se puede apreciar como el perisporio o parte de él ha sido removido.

En el análisis llevado a cabo en esta tesis, se realizó acetólisis para algunos ejemplares de 3 especies de *Dryopteris*, *D. filix-mas*, *D. patula* y *D. wallichiana*. Ya que este procedimiento causó rajaduras y pérdidas del perisporio, no se volvió a aplicar debido a que caracteres importantes se veían distorsionados.

Esta técnica permite una mejor observación de la pared de la espora e incluso apreciar más claramente el color de la misma sin el contenido celular. Incluso, según Viane (1986), utilizar el color de esporas no acetolizadas como un carácter a tener en cuenta como sustancial en una descripción palinológica no parece ser confiable. No obstante, el color de las esporas de los ejemplares aquí tratados con acetólisis no fue diferente al color de las que no fueron tratadas.

4.6. VARIABLES CUANTITATIVAS

En el caso del tamaño de las esporas de *Ctenitis*, Tryon y Lugardon (1991) observaron que el tamaño del diámetro ecuatorial mayor fue de 22-52 μm , muy semejante a la obtenida en esta tesis, 28-50 μm .

Por su parte, el tamaño de las esporas de *Dryopteris* ha sido estudiado por varios autores, obteniendo, en principio, algunas incongruencias en cuanto al diámetro ecuatorial mayor. Belling y Heusser (1974) afirman que para Norteamérica, el género posee esporas de 35-90 μm . Por su parte, Crane (1960) asegura que en Norteamérica y Europa, el tamaño es de 22-50 μm . En uno de los estudios más completos, en cantidad de especies observadas (54), fue el realizado por Tryon y Lugardon (1991), arribando a resultados intermedios entre los anteriormente mencionados, ya que el tamaño hallado por estos autores osciló entre 20 y 70 μm . Mientras que un estudio realizado por Zhang et al. (2011) se propone que el tamaño de las esporas del género corresponde a 31-83 μm , aunque hay algunas especies, como *D. subtriangularis* (C. Hope) C. Chr. que superan los 100 μm , aunque posiblemente esta especie sea poliploide de un alto nivel. No obstante, el diámetro ecuatorial mayor en las esporas aquí analizadas, correspondientes al Cono Sur de América, es de 36-63 μm , una medida intermedia entre las anteriormente mencionadas.

Varios autores sugieren que el tamaño de las esporas puede contribuir a establecer hipótesis de relaciones evolutivas dentro de complejos poliploides relacionados (Roux 2011). Los poliploides de especies estrechamente relacionadas poseen esporas consistentemente más grandes que sus parientes de menor ploidía, generalmente diploides (Manton, 1950; Blasdell, 1963; Barrington et al., 1986; Gómez-Noguez et al., 2016). Un ejemplo de esto fue el estudio realizado por Sigel et al. (2011) donde corroboraron que es común encontrar que los citotipos con mayor nivel de ploidía posean un tamaño mayor que el de sus citotipos con menor nivel de ploidía. Esto quedó asentado con las diferencias entre el citotipo diploide de *Argyrosma nivea* var. *tenera* (Gillies ex Hook.) Ponce de Bolivia y Argentina y el citotipo tetraploide, con 45-55 μm y 65-75 μm , respectivamente. La especie mexicana, *A. limitanea* (Maxon) Windham, también mostró que su citotipo triploide resultó poseer esporas más pequeñas que el citotipo hexaploide, con 65-70 μm y 80-85 μm , respectivamente.

Sin embargo, hay muchos estudios llevados a cabo en distintas partes del mundo sobre el género *Dryopteris* para correlacionar el tamaño de las esporas con su nivel de

ploidía y los resultados obtenidos lucen en principio, inconsistentes. Así, diversos estudios han comparado citotipos diploides entre sí, citotipos diploides con triploides, tetraploides o hexaploides, teniendo en cuenta además, la naturaleza de estos citotipos, es decir, si son especies sexuales normales, apogámicos o híbridos.

Entre los primeros autores que realizaron estudios citológicos se encuentra Manton (1950), quién encontró extraño que las esporas de los citotipos británicos diploide de *D. abbreviata* y tetraploide de *D. filix-mas* fueran de tamaño casi idéntico. Algo semejante halló Britton (1968) concluyendo de un análisis de especies de *Dryopteris* del este de América del Norte que el tamaño de las esporas y el nivel de ploidía no están estrechamente relacionados en el género. Este autor se basa en los tamaños de esporas relativamente grandes de las especies diploides como *D. fragrans* y *D. expansa*. El tamaño medio de las esporas de *D. expansa* era prácticamente idéntico al de los tetraploides *D. campyloptera* y *D. spinulosa*. Por su parte, Wagner Jr. (1971) proporcionó datos de longitud de esporas para un conjunto ampliado de especies de *Dryopteris* en su estudio en los Apalaches. Sus datos corroboran la observación de Britton (1968) de que no existe una relación simple entre la longitud de las esporas y el nivel de ploidía en el género.

Las observaciones sobre diferentes especies del género *Dryopteris* en Gran Bretaña y el este de América del Norte respecto de estos 3 autores sugieren que los tamaños de esporas diploides dentro del género *Dryopteris* pueden ser bastante diferentes si se las compara entre sí o entre tetraploides.

De acuerdo a Mitui (1972), los niveles de ploidía de las plantas a menudo pueden reflejarse en diferencias en el tamaño de esporas. Para afirmar esto, se basó en las variaciones en el tamaño de las 45 especies japonesas de *Dryopteris*, incluyendo 19 especies apogámicas, en su mayoría triploides y tetraploides. Descubrió que en una gran proporción, mientras más alto el nivel de ploidía, más grande era el tamaño de las esporas.

De igual manera, 28 especies de *Dryopteris* japonesas fueron analizadas por Kanamori (1969) quien realizó una serie de gráficos de curvas acerca de la variación en el tamaño de las esporas. Estos gráficos muestran diferencias entre las especies apogámicas y las especies sexuales normales, estableciendo que éstas últimas poseen rangos de variación entre los máximos y mínimos más estrechos. Este autor corroboró que las especies normales tienen un rango de variación de hasta 15 μm mientras que las apogámicas rondan en los 22 μm o incluso más. Este rango de variación en las especies apogámicas recuerda al de las especies híbridas mostradas por Wagner Jr. y Chen (1965)

para los *Dryopteris* norteamericanos y por Daigobo (1972) para los *Polystichum*, otro género perteneciente a la familia Dryopteridaceae. En este contexto, dentro de las esporas analizadas en esta tesis, solo *D. dilatata* posee un rango de variación de 22 μm por lo que podría considerarse entonces una especie apogámica, de acuerdo a los datos aportados por Kanamori (1969). No obstante, continuando con las especies analizadas en esta tesis, hay algunas que poseen un rango de variación en el intervalo de 15-22 μm propuesto por Kanamori (1969), pudiendo entonces pertenecer a uno u otro grupo, tal es el caso *D. wallichiana* (18 μm) y *D. filix-mas* (20 μm).

En relación a lo mencionado por Kanamori (1969) sobre los diferentes rangos de variación que existen entre especies sexuales y apogámicas, Roux (2012) afirma que varios taxones tetraploides poseen una diferencia superior a 15 μm y hasta 22 μm . Con lo cual, estas especies podrían también ser apogámicas tal como lo menciona Kanamori (1969).

En lo que respecta a la comparación entre diploides y triploides apogámicos, Lee y Park (2014) compararon en Corea citotipos de una misma especie pero de diferente ploidía. Así, las esporas de los individuos diploides sexuales de *D. saxifraga* H. Itô eran mucho más pequeñas (30-41x16-24 μm) que las de los individuos triploides apogámicos (45-61x25-40 μm). Otros autores como Kanamori (1969), Mitui (1972) y Quintanilla y Escudero (2006) informaron que las esporas de especímenes diploides sexuales suelen ser más pequeñas que las de los triploides apogámicos. Lo que respalda la afirmación de que el tamaño de las esporas en los helechos generalmente está relacionado con los niveles de ploidía (Manton, 1950; Wagner Jr., 1966; Kanamori, 1971; Moran, 1982; Pryer y Britton, 1983; Barrington et al., 1986).

Ahora, tomando en cuenta la diferencia entre especies diploides y triploides apogámicos, y aunque no se haya hecho un análisis citológico del género, de las 4 especies de *Dryopteris* analizadas en esta tesis, solo *D. patula* es considerada diploide y tanto *D. dilatata* como *D. filix-mas* son consideradas tetraploides, mientras que *D. wallichiana* es la única considerada apogámica triploide o incluso de mayores ploidías (Tryon y Tryon, 1982; Xiang et al., 2006; Roux, 2012). Bajo este contexto y con la premisa de que las especies de mayor nivel de ploidía poseen esporas con tamaños mayores, en este estudio se cumple sólo en parte, pues *D. filix-mas* (tetraploide) posee esporas con un diámetro ecuatorial mayor significativamente mayor al resto de las especies (valor-P: 0,0116). De esta forma, de acuerdo al análisis estadístico aquí llevado a cabo, la otra especie

tetraploide (*D. dilatata*) no es mayor a la triploide apogámica (*D. wallichiana*) y esta última no es mayor con respecto a la diploide (*D. patula*).

En relación a esto, el aumento en el volumen asociado con la poliploidía se ha descrito en varios tipos de células y diversos grupos de helechos. La abundante información sobre el tamaño de las células poliploides, especialmente las esporas y las células guarda en los estomas, confirma estos hallazgos (Barrington et al., 1986). Sin embargo, se ha informado un tamaño de espора similar entre los poliploides y sus progenitores diploides en varios conjuntos de especies, incluidas algunas especies de *Dryopteris* (Britton, 1968; Wagner Jr., 1971; Viane, 1986). Quintanilla y Escudero (2006) descubrieron que los alotetraploides *D. guanchica* Gibby y Jermy y *D. filix-mas* tienen esporas ligeramente más grandes que sus progenitores diploides, *D. aemula* (Aiton) Kuntze y *D. oreades*, respectivamente. En contraste, *D. corleyi* Fraser-Jenk., otro alotetraploide derivado de estos diploides, tiene esporas excepcionalmente grandes.

Los híbridos tienden a tener una mayor variación en el tamaño de las esporas que las especies sexuales normales (Wagner Jr. y Chen, 1965; Kanamori, 1969). De esta forma, según Whittier y Wagner Jr. (1971) la variación estándar entre el valor máximo y el mínimo del diámetro ecuatorial mayor en especies sexuales normales correspondería entre 2,4-5,8 μm mientras que la variación en híbridos es mucho mayor, rondando los 10,1-22,5 μm . La variación estándar dentro de las especies analizadas en esta tesis fue contundentemente similar a lo propuesto por estos autores para los híbridos. En lo que respecta al género *Ctenitis*, todas las especies analizadas, salvo *C. aspidioides* y *C. eriocaulis*, superan los 10 μm de variación estándar, sin embargo, hay otras que rondan los 20 μm de variación, como *C. submarginalis* y *C. falciculata* (19 μm) y *C. bigarellae* (17 μm). Por otro lado, todas las especies del género *Dryopteris* superan el valor de 10 μm por lo que se las incluiría dentro del grupo de los híbridos. Así, *D. dilatata* es la especie con mayor variación (22 μm) seguida por *D. filix-mas* (20 μm) y *D. wallichiana* (18 μm), mientras que *D. patula* es la menor (14 μm).

Asimismo, Hernández-Hernández et al. (2009) en un análisis morfométrico del complejo de *D. patula* en México midió las esporas de 4 especies: *D. cinnamomea* (Cav.) C. Chr., *D. patula*, *D. rosea* (E. Fourn.) Mickel & Beitel y *D. rossii* C. Chr.. Registraron de esta forma que *D. patula* fue la especie con esporas de mayor variabilidad, superando los 22 μm , mientras que aquí, comparándola con otras especies que no pertenecen a su complejo, la variación fue tan solo de 14 μm , resultando la de menor variabilidad entre el resto de las especies analizadas del género. La variación en el tamaño de las esporas de

12 especies mexicanas de *Dryopteris*, incluidas *D. patula* y *D. wallichiana*, también fue notada por Pérez-García et al. (1999, 2001). Las especies con mayor rango de variación fueron *D. munchii* y *D. wallichiana*, con 16 μm y ambas resultaron ser especies que forman sus esporofitos de forma apogámica. En comparación con el estudio realizado por los autores con ejemplares mexicanos, *D. patula* y *D. wallichiana* variaron tan solo en 2 μm menos que los obtenidos en esta tesis (12 μm y 16 μm , respectivamente).

La variación en el tamaño de las esporas entre las especies depende, según Barrington et al. (1986), de al menos tres factores. 1) El tamaño varía con la adaptación para la dispersión. Suponiendo que el tamaño pequeño aumenta la probabilidad de dispersión fuera de la región del progenitor (Carlquist, 1966). 2) El tamaño de la espora aumenta por razones nutricionales. 3) Cox y Hickey (1984) proporcionaron evidencia de que los parámetros ambientales afectan fuertemente el tamaño de las esporas. Sin embargo, otro factor que se puede agregar es la desigual proporción de cromosomas que se puede dar en una irregularidad dentro de la meiosis (Wagner Jr. et al., 1986).

Existe evidencia de que el volumen celular de algunas plantas poliploides tiende a disminuir con el tiempo, hacia los niveles de diploides relacionados tal como lo afirman Barrington et al. (1986) y Quintanilla y Escudero (2006). Esto podría explicar por qué las especies de mayor nivel de ploidía aquí estudiadas no poseen esporas significativamente más grandes que las de menor nivel de ploidía.

Entre los caracteres que analizó Crane (1960) para las especies de *Dryopteris* de Europa y Norteamérica, incluyó el tamaño relativo de las esporas. A las esporas de *D. filix-mas* las clasificó como esporas grandes (41-50 μm). Mientras que el tamaño hallado aquí (43-63 μm) supera a las medidas de los ejemplares norteamericanos por 13 μm , señalando una vez más la gran variabilidad, ya no sólo en cuanto a la morfología de los pliegues sino también en cuanto a su tamaño. Estas mismas diferencias en cuanto al tamaño se dieron con respecto a las esporas analizadas por Ivanova (2004) para ejemplares búlgaros y a los ejemplares analizados por Nayar y Devi (1964) provenientes de la India.

Es cierto que la tendencia a hibridar y a formar especies apogámicas es sustancial en el género *Dryopteris*, incluyendo también un proceso de poliploidización. No obstante, los resultados hallados en las especies estudiadas aquí, permiten avalar, por lo pronto, algunas inconsistencias en la meiosis. Sin embargo, formular premisas o hipótesis tan sólo con la morfología de esporas colapsadas o irregulares, colores opacos brillantes y unos rangos de variación amplios, no bastan para certificar concretamente alguno de estos

procesos anteriormente mencionados. Es necesario, para corroborar cuál es la inconsistencia, un ensayo de viabilidad y también estudios citológicos, además de verificar otras características en los esporofitos para poder tener una certeza en concreto del porqué de estas anormalidades. Este tipo de estudios permitirían verificar si se deben a hibridación, poliploidía, apogamia, una combinación o algún otro factor. Debido a que estos ensayos excedieron a los objetivos de la tesis, no se han realizado, pero serían considerados un tópico importante para futuros estudios.

4.6.1. OBSERVACIONES ESTADÍSTICAS

Dentro del género *Ctenitis* se han podido establecer algunas agrupaciones de especies, debido a que sus medias o medianas y sus respectivos rangos de variación resultaron ser muy semejantes dentro de cada una de las variables analizadas. De esta forma, en el diámetro ecuatorial mayor, las especies que se han agrupado son *C. anniesii* y *C. bigarellae*; *C. distans* y *C. eriocaulis*; *C. aspidioides* y *C. nervata*; *C. falciculata*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis*. En lo que respecta al diámetro ecuatorial menor, las medidas son muy parejas exceptuando a las especies que son significativamente menores y mayores y si hay agrupaciones, este análisis carece de claridad. Algo semejante ocurre en el diámetro polar, aunque en esta variable, algunas agrupaciones claras se pueden observar, tales como las de *C. ampla* y *C. aspidioides*; *C. anniesii* y *C. bigarellae*. La última variable corresponde a la lesura, en cuyo caso, fue la de mayor variación interna. *C. anniesii* y *C. bigarellae* nuevamente se ven agrupadas, al igual que *C. aspidioides* y *C. nervata*.

En algunos casos, estas mismas agrupaciones que se dan en el análisis de las variables cuantitativas analizadas de las esporas, también se ven reflejadas en otras características del esporofito. Así, *C. aspidioides* y *C. nervata* son las 2 especies analizadas dentro del cono sur que también están agrupadas por poseer pinnas cuya incisión es $1/4-2/3$ de la distancia entre el ápice del segmento y la costa. Además, son 2 especies que poseen medidas superiores constantes en todas las variables analizadas.

Otras especies agrupadas como *C. anniesii* y *C. bigarellae*, que en sus respectivas características del esporofito no logran agruparse. De acuerdo a Viveros et al. (2018), *C. anniesii* es una especie morfológicamente similar a *C. fenestralis* y *C. deflexa*, dado que poseen segmentos estrechos, separados por un ancho seno y escamas similares. Por el contrario, el esporofito de *C. bigarellae* es similar a *C. falciculata* y *C. paranaensis*. A pesar de que sus variables cuantitativas sean constantes en estas 2 especies, la morfología

de sus esporas no dice lo mismo. *C. bigarellae* posee pliegues cortos a alargados, regularmente inflados y globosos, mientras que *C. anniesii* carece de regularidad en sus pliegues y son más dispersos.

C. falciculata y *C. paranaensis* también resultaron ser constantes en las variables analizadas y eso también se evidencia en la morfología del esporofito.

Tal como lo mencionan Tryon y Lugardon (1991), la variación en el tamaño dentro de las esporas de *C. submarginalis* para ejemplares brasileros y centroamericanos también se evidenció aquí. Esta especie ha sido mencionada por Viveros et al. (2018) como una especie morfológicamente muy variable, considerándola tal vez como un complejo de especies. Además, señaló que un motivo de esta variación puede ser la altitud a la que crece.

Por otra parte, *C. deflexa* ha resultado ser la única especie, que exceptuando la lesura, ha sido significativamente menor en el resto de las variables con respecto a casi todas las especies analizadas del género. Cabe mencionar que también es la única que posee un rizoma cortamente rastrero con escamas que poseen muchas fimbrias.

C. ampla es la única especie cuyo esporofito posee una lámina 2-4-pinnado-pinnatífida, esporas tendiendo a globosas y equinadas. Además es otra de las especies, exceptuando la lesura, que también posee variables altas y constantes junto con *C. aspidioides* y *C. nervata*.

Todas las agrupaciones y no agrupaciones podrían estar mejor sustentadas y se llegaría a formular una hipótesis más acertada de las causas a través un análisis de componentes principales, o un estudio semejante. No obstante, este tipo de análisis excedía los objetivos de la tesis, razón por lo que no se llevó a cabo, pero es un tópico muy interesante a futuro.

En lo que respecta a las variables cuantitativas analizadas para el género *Dryopteris* se halló que *D. patula* y *D. wallichiana* poseen esporas que se agrupan prácticamente en todas las variables analizadas, aun con excepción de la lesura, donde no hay diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

4.7. CONSIDERACIONES AERO Y PALEOPALINOLÓGICAS

Los estudios florísticos, ecológicos y fisiológicos a menudo son incompletos o terminan interrumpidos debido a la falta de identificación del material con el que se trabaja. Tal es el caso del estudio donde Guarín et al. (2015) identificaron esporas de las familias Gleicheniaceae y Polypodiaceae en su estudio aeropalínológico en Colombia.

No obstante, no pudieron identificar a los géneros y/o especies a través de las esporas. Consecuentemente, Coelho (2015) afirma que la morfología de las esporas es una poderosa herramienta para interpretaciones taxonómicas.

En concordancia con lo mencionado por Coelho (2015), diversos autores han realizado estudios sobre la morfología de las esporas de helechos asociadas con los estudios taxonómicos, tales como Christensen (1938), Ching (1940), Copeland (1947), Holttum (1947, 1949), Erdtman (1952), Crane (1960), Nayar y Devi (1964, 1968), Nayar y Kaur (1965), Wagner Jr. (1974), Devi (1979), Tryon y Tryon (1982) y Tryon y Lugardon (1991).

Las esporas pueden aportar información sobre deposición y composición de la flora. El análisis temporal de las esporas muestra la distribución de las mismas a través de un perfil que revela la riqueza en el sedimento. El análisis de este tipo de perfiles muestra condiciones ecológicas en el área, como períodos de sequía o altas temperaturas (Coelho 2015), por lo que es fundamental contar con estudios palinológicos previos que cuenten con información pertinente a la hora de identificar palinomorfos.

El estudio de las esporas atmosféricas es crucial porque muchas de estas esporas pueden actuar como patógenos o causar enfermedades respiratorias o alérgicas en humanos (Vélez et al. 2009). La importancia de las esporas de helechos en las enfermedades alérgicas fue señalada por Geller-Bernstein et al. (1987), mediante pruebas de punción cutánea. Las frecuencias más altas en esta prueba se obtuvieron en esporas de *Nephrolepis auriculata* (L.) Trimen y *Asplenium nidus* L. De acuerdo con Adeniyi (2017), la alergenidad de las esporas de los helechos no ha sido muy bien estudiada y afirma que esto puede deberse a la escasa flotabilidad y gran tamaño, por lo que no permanecen suspendidas mucho tiempo en el aire. No obstante, en un estudio aeropalínológico con implicancias alérgicas, Adeniyi (2017) registró la presencia de esporas de al menos 4 géneros de helechos, entre los que se encuentra *Dryopteris*. De acuerdo a ese estudio, se planteó la posibilidad de evaluar el estado de conservación de la planta, debido a la comparación registrada de la densidad de esporas en años previos. Estas inferencias se llevaron a cabo analizando los registros aeropalínológicos durante al menos 3 años.

Distintos estudios sobre la carcinogenicidad de las esporas de helechos (Freitas et al., 2001) han indicado que son riesgosas para la salud humana al ser inhaladas o ingeridas. Por ejemplo, algunas de las características alérgicas de las esporas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn revelaron distinto tipo de actividad mutagénica y

cancerígena (Simán et al., 2000). Asimismo, las esporas de otras especies como *Anemia phyllitidis* (L.) Sw., *Pteris vittata* L. y *Sadleria pallida* Hook. & Arn. también inducen modificaciones del ADN (Simán et al., 2000). Helechos más comunes en las ciudades, como *Adiantum capillus-veneris* L., *Cyrtomium falcatum* (L. f.) C. Presl y *Pteris vittata* indujeron reacciones cutáneas leves, o algunas más severas, como *Dryopteris setigera* (Blume) Kuntze (Zenkteler, 2012).

Por estas razones, el monitoreo de los niveles atmosféricos de esporas de helechos es relevante para disminuir la exposición a los alérgenos de helechos y evitar las implicaciones cancerígenas para la salud humana.

Además de la importancia clínica de los recuentos de esporas de helechos atmosféricos, los escenarios de cambio climático podrían estar relacionados con una mayor producción de partículas biológicas en el aire como esporas y propágulos de polen y hongos (Rodríguez de la Cruz et al., 2011). Estudios de este tipo podría ayudar con la determinación de los procesos fenológicos y así abordar los desafíos futuros, incluida la comprensión de las posibles consecuencias del calentamiento global a través de los helechos y la dispersión de sus esporas (Mehltreter, 2008; Gómez-Noguez et al., 2014).

Para realizar correctamente este tipo de estudios, es necesaria la identificación previa de los palinomorfos, lo que hace que los catálogos palinológicos de referencia tanto de la flora actual como del material sedimentario sean de gran valor (Leonhardt y Lorscheitter, 2007).

Así, las esporas se vuelven una herramienta muy importante, ya sea para distinguir taxones, corroborar la presencia de taxones tanto en la flora actual como en el material sedimentario, brindar condiciones ecológicas del área de estudio a través de su análisis, corroborar su alergenicidad o comprender posibles consecuencias de calentamiento global o conservación de una especie. De esta forma, tener en cuenta los caracteres palinológicos como la ornamentación, el color o las dimensiones de los ejes son fundamentales en estudios aeropalínológicos y paleopalínológicos. Los compendios de la flora pteridofítica podrían proporcionar una herramienta interesante que permita comparar palinomorfos a través de ilustraciones. Los datos incluidos en dicho compendio permitirían observar de forma rápida y eficiente las diferencias interespecíficas entre tamaño, color, forma y escultura de la superficie de las esporas, principalmente en helechos (Zenkteler, 2012).

Así se espera que las contribuciones de esta tesis aporten información para la identificación de palinomorfos en estudios de aeropalínología y paleopalínología.

5. CONCLUSIONES

5.1. CONSIDERACIONES MORFOLÓGICAS

Las esporas de las especies analizadas del género *Ctenitis* en el Cono Sur de América son monoletes, de simetría bilateral (-sub-radial), de color marrón claro a marrón oscuro. El contorno es plano a convexo en vista ecuatorial y elipsoidal (-sub-circular) en vista polar. El diámetro ecuatorial mayor es de 28 (38,6) 50,4 μm , el diámetro ecuatorial menor de 14,7 (29,1) 43,1 μm , el diámetro polar de 18,2 (28,8) 44,1 μm y la lesura es de 8,4 (21,5) 43,4 μm de largo.

La morfología de las esporas en las especies del género *Ctenitis* se divide en 2 grandes tipos ornamentales: el equinado y el rugado. Las especies con esporas rugadas, son aquellas que también poseen una lámina 1-pinnado-pinnatífida, mientras que *C. ampla* es la única especie dentro del género en el Cono Sur de América con esporas equinadas y lámina 2-4-pinnado-pinnatífida.

Las especies que comparten el tipo rugado poseen una macro y microornamentación muy similares. La macroornamentación se compone de pliegues que presentan dimensiones variables de 2,2-31,9 μm de largo, 0,7-6,3 μm de alto y 1,6-7,4 μm de ancho. En cuanto a su morfología pueden ser lineares, sinuosos, subglobosos, con forma de asa, que pueden estar regularmente distribuidos en toda la espora o no. Los pliegues pueden estar fusionados parcialmente y en algunos casos pueden tener ramificaciones en forma de Y. Se hallaron pliegues asociados a la lesura. La macroornamentación es la característica con mayor variabilidad, tanto cuantitativa como cualitativamente dentro del tipo rugado. La superficie del perisporio es semejante en la mayoría de las especies y puede ser microverrucosa (como en *C. bigarellae*), rugulada (como en *C. anniesii*) o fina a densamente escabrada entre los pliegues y psilada a finamente escabrada en los pliegues.

El tipo equinado fue observado únicamente en las esporas de *C. ampla*. La ornamentación está compuesta por espinas cónicas, de base ancha y ápice atenuado, huecas en su interior. La base de las espinas puede ser lisa o presentar cordones que se conectan con las bases de otras espinas.

El color de las esporas observadas al MO varía del castaño claro al castaño, con excepción de *C. bigarellae*, en cuyo caso el color de sus esporas es castaño oscuro.

La estratificación y la ultraestructura en las especies analizadas en el género son muy semejantes. El esporoderma está conformado por un exosporio liso, de 0,19-0,93 μm

de ancho y un perisporio, de 0,19-1,24 μm de ancho, que forma la ornamentación de las esporas mediante pliegues huecos. Tanto el exosporio como el perisporio están constituidos por 2 capas diferenciables por grosor y contraste. En el exosporio, la capa interna es más delgada y está más contrastada que la externa. En el perisporio, la capa interna es la más ancha y es la que forma la ornamentación mientras que la capa externa es más delgada, menos contrastada y es la que tapiza las superficies internas y externas de los pliegues. En *C. eriocaulis*, se observó que la lesura está cubierta por un pliegue supralesural, característica no observada en *C. submarginalis*. Se observaron canales simples y ramificados, principalmente en el exosporio externo. Numerosas escamas del perisporio fueron observadas inmersas en la base del perisporio donde esta pared limita con el exosporio.

A través del análisis palinológico fue posible hallar esporas inmaduras en esporangios de *C. fenestralis*, en formas solitarias o formando agregaciones tipo tétrade carentes de una completa formación, presentando unos pocos pliegues en algunas esporas. Por otro lado, los esporangios de *C. laetevirens* analizados se encontraron completamente abortados, negruzcos y sin esporas.

Las esporas de las especies analizadas del género *Dryopteris* son monoletes, de simetría bilateral, de color marrón claro, marrón verdoso o marrón oscuro. El contorno en vista ecuatorial es plano a convexo (-ligeramente hemisférico) y elipsoidal en vista polar. El diámetro ecuatorial mayor es de 36,7 (48,9) 63 μm , el diámetro ecuatorial menor de 27,1 (33,3) 40,2 μm , el diámetro polar 28 (34) 45,5 μm y la lesura es de 17,5 (28,2) 42 μm de largo.

Las especies de *Dryopteris* que habitan el Cono Sur de América presentan una ornamentación rugada. La misma está conformada por pliegues de dimensiones variables, de 3,8-34 μm de largo, 1,5-9 μm de ancho y 2,2-9 μm de alto. En cuanto a la morfología de los pliegues, estos pueden ser subglobosos, lineares, sinuosos o ramificados en forma de estrella, Y o C. Pueden estar parcial o totalmente fusionados formando retículos completos o incompletos.

La superficie del perisporio es una gran fuente de caracteres diagnósticos para las esporas de estas especies. *D. dilatata* presenta esporas con la superficie del perisporio equinulada, *D. patula* presenta esporas con una superficie rugulada o rugulada-foveolada, mientras que *D. filix-mas* y *D. wallichiana* presentan esporas con una superficie rugulada-reticulada.

El color de las esporas observadas al MO es un caracter que puede ser considerado de utilidad para diferenciar las especies dentro del género. Las esporas de *D. patula* son de color castaño oscuro, las esporas de *D. filix-mas* son de color marrón-verdoso y las esporas de *D. dilatata* y *D. wallichiana* son de color castaño. No obstante, estas últimas 2 especies se pueden diferenciar fácilmente por las diferencias en la microornamentación del perisporio, ya que la primera presenta una superficie del perisporio equinulada mientras que la segunda una superficie rugulada-reticulada.

Cada una de las 4 especies del género *Dryopteris* que habitan el Cono Sur de América pertenece a una sección diferente del subgénero *Dryopteris*. La caracterización morfológica de sus esporas, particularmente los caracteres de la microornamentación y el grado de división de la lámina podrían corresponderse significativamente con que pertenezcan a diferentes secciones del subgénero. De esta manera, *D. dilatata* que pertenece a la sección *Lophodium*, presenta una superficie del perisporio equinulada, única dentro del género y una lámina tetrapinnada. Por su parte, *D. patula* pertenece a la sección *Cinnamomeae* y presenta una superficie del perisporio rugulada o rugulada-foveolada y una lámina tripinnada. Por último, *D. filix-mas* y *D. wallichiana*, que pertenecen a las secciones *Dryopteris* y *Fibrillosae*, respectivamente, presentan una superficie del perisporio rugulada-reticulada y una lámina pinnada-pinnatifida.

La estratificación y la ultraestructura en las especies analizadas del género son muy semejantes. El esporoderma está conformado por un exosporio liso, de 0,36-1,5 μm de ancho, y un perisporio, 0,07-2,22 μm de ancho, que forma la ornamentación de las esporas mediante pliegues huecos. Tanto el exosporio como el perisporio están constituidos por 2 capas diferenciables por grosor y contraste. En el exosporio, la capa interna es más delgada y está más contrastada que la externa. En el perisporio, la capa interna es la más ancha y es la que forma la ornamentación mientras que la capa externa es más delgada, menos contrastada y es la que tapiza las superficies internas y externas de los pliegues. En las especies analizadas se observó que la lesura está cubierta por un pliegue supralesural. Se observaron canales simples y ramificados principalmente en el exosporio interno. Varias pequeñas porciones de membranas (escamas) fueron observadas inmersas en el perisporio, cerca de donde esta pared limita con el exosporio. Esférulas con contraste similar al perisporio fueron observadas en la superficie del mismo.

A través del análisis palinológico fue posible hallar esporas malformadas, principalmente en *D. wallichiana* y en menor medida en *D. patula*. Las malformaciones se consideraron como tal cuando la forma, el tamaño o color no se correspondía con la

mayoría de las esporas observadas. De esta forma, se pudo observar ejemplares con esporas de tamaño irregular, triangulares, globosas, retorcidas y de un color más opaco o más brillante que las normales.

Las anomalías y malformaciones observadas en ambos géneros contemplan alteraciones en su ciclo de vida. La hibridación y/o apogamia son características frecuentemente documentadas, principalmente en el género *Dryopteris*. La malformación de esporas y esporangios negruzcos y abortados no son características por sí mismas diagnósticas de hibridación o apogamia, debido a que se debe considerar un conjunto de características, como la morfología de la planta, la citología y viabilidad para corroborar cualquier premisa.

Las características cualitativas como la macro y microornamentación y el color de las esporas, pueden ser utilizadas para la sistemática del género *Dryopteris*. Esto es debido a que la combinación de la morfología de los pliegues, el tipo de superficie y el color son características taxonómicas de importante valor para las especies analizadas del género en el Cono Sur de América.

Sin embargo, para las especies estudiadas del género *Ctenitis*, las características cualitativas analizadas son útiles para diferenciar las esporas de algunas especies. El color al MO sólo es útil para diferenciar a *C. bigarellae*, con esporas castaño oscuro, del resto de las especies analizadas que presentan esporas castaño o castaño claro. La macroornamentación en las especies estudiadas es la característica con mayor nivel diagnóstico para cierto grupo de especies. *C. ampla* es la única especie que presenta esporas equinadas. Las especies con pliegues lineares, sinuosos, principalmente alargados, que pueden ser angostos o no y que pueden fusionarse parcialmente son *C. aspidioides*, *C. falciculata* y *C. nervata*. Por otro lado, las especies que poseen esporas con pliegues regular y densamente distribuidos, inflados, subglobosos, cortos y redondeados son *C. bigarellae* y *C. submarginalis*, sin embargo, estas 2 especies pueden diferenciarse fácilmente por el color, ya que la primera presenta esporas de color castaño oscuro, mientras que la segunda castaño claro. Las restantes especies, *C. anniesii*, *C. deflexa*, *C. distans*, *C. eriocaulis* y *C. paranaensis* poseen esporas con características cualitativas similares.

5.2. CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS

Ctenitis:

Las especies que denotaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al diámetro ecuatorial mayor (DEMAYOR) son *C. aspidioides* y *C. nervata* por un lado, que son significativamente mayores a *C. deflexa*, *C. distans*, *C. eriocaulis* y *C. submarginalis* en ambos casos, mientras que la primera también es mayor a *C. falciculata* y *C. paranaensis*. Por otra parte, *C. ampla* y *C. bigarellae* denotaron diferencias significativamente mayores con respecto a *C. deflexa*. La especie con menor amplitud dentro de la variable fue *C. aspidioides*, mientras que por el contrario, la de mayor amplitud interna fue *C. submarginalis*.

En el diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) fueron solo 2 especies que denotaron diferencias estadísticamente significativas, así, *C. ampla* fue la especie con medidas significativamente mayores a *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. deflexa*, *C. distans*, *C. eriocaulis*, *C. falciculata*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis*. Mientras que *C. deflexa* fue la especie con medidas significativamente menores al resto de las especies analizadas. Dentro de esta variable, *C. eriocaulis* fue la especie con menor variación, mientras que *C. aspidioides* y *C. falciculata* fueron las especies con mayor amplitud. Además, dejando de lado a las 2 especies con diferencias estadísticamente significativas por sobre el resto, las otras 9 especies analizadas tuvieron medidas relativamente similares aunque algunas con mayor amplitud que otras.

El diámetro polar (DP) muestra que las especies con diferencias estadísticamente significativas son *C. ampla* y *C. aspidioides*, que son significativamente mayores a *C. deflexa*, *C. distans*, *C. paranaensis* en ambos casos, y *C. submarginalis* en el caso de *C. ampla*. Por otra parte, *C. deflexa* es significativamente menor con respecto a las medidas de *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. eriocaulis*, *C. falciculata* y *C. nervata*. Las especies con menor amplitud en sus medidas dentro de esta variable son *C. eriocaulis* y *C. paranaensis*, mientras que *C. aspidioides* y *C. falciculata* son las que más variación poseen.

En el caso de la lesura (L), *C. aspidioides* y *C. nervata* poseen medidas significativamente mayores a las de *C. ampla*, *C. deflexa* y *C. eriocaulis* en ambos casos, además de *C. submarginalis* en el caso de *C. aspidioides*. Por su parte, *C. ampla* y *C. eriocaulis* poseen medidas significativamente menores que *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. distans*, *C. falciculata* y *C. paranaensis*, además de las ya mencionadas *C. aspidioides* y *C. nervata*. Por último, *C. submarginalis* es significativamente mayor que *C. ampla* para esta variable. Las especies con una amplitud menor son *C. distans*, *C. eriocaulis* y *C.*

paranaensis, mientras que *C. falciculata*, *C. nervata* y *C. submarginalis* son las especies que muestran mayor amplitud.

Del análisis ensamblando a todas las variables analizadas, se desprenden 3 grandes grupos de especies para el género *Ctenitis*. El primer grupo está constituido por *C. ampla*, *C. aspidioides* y *C. nervata* que son las especies que poseen las medidas estadísticamente superiores al resto de las especies, exceptuando a *C. ampla* en la lesura. El segundo grupo se compone de *C. anniesii*, *C. bigarellae*, *C. distans*, *C. falciculata*, *C. paranaensis* y *C. submarginalis* que son las especies con medidas intermedias, y por último, *C. deflexa* es la especie que registra todos los diámetros significativamente menores.

Por su parte, *C. submarginalis* que es una especie de amplia distribución y morfológicamente muy variable en cuanto su esporofito, presentó también una gran amplitud en las características cuantitativas de sus esporas. Esta gran amplitud interna de cada una de las variables analizadas también es compartida con otras 2 especies, *C. aspidioides* y *C. falciculata*. Por el contrario, *C. eriocaulis* y *C. paranaensis* son las especies con menor amplitud dentro de las variables cuantitativas estudiadas.

De esta manera, el análisis estadístico evidenció asociaciones de especies que también se agrupan de acuerdo a características morfológicas del esporofito. Así, *C. aspidioides* y *C. nervata*, que son de las especies cuyas medidas están entre las más grandes dentro del género en el Cono Sur, también son las que presentan una profunda incisión en sus pinnas por lo que la morfología de sus esporofitos es congruente con las características cuantitativas de sus esporas. Además, ambas especies tienen en común la morfología de los pliegues de sus esporas, ya que presentan pliegues lineares y alargados, angostos en algunos casos y robustos en otros, que pueden fusionarse parcialmente.

El diámetro polar ha sido, exceptuando a las 2 especies que fueron los valores significativamente máximo y mínimo, la característica menos variable dentro del género. Todo lo contrario es la lesura, es la variable con mayor amplitud interna entre las especies analizadas.

Así, el estudio estadístico realizado en estas especies del género *Ctenitis* permitió crear asociaciones entre algunas características morfológicas del esporofito, incluida la morfología de las esporas y sus variables cuantitativas, por lo que podrían considerarse de importante valor para el género en el Cono Sur de América.

Dryopteris:

La especie que estadísticamente mostró las mayores medidas fue *D. filix-mas*. Esta especie posee valores significativamente mayores en el diámetro ecuatorial mayor

(DEMAYOR) respecto de *D. patula* y *D. wallichiana*. Asimismo, también es la especie que posee la lesura (L) significativamente mayor dentro de las especies del género analizadas.

D. dilatata es la especie que mostró el diámetro ecuatorial menor (DEMENOR) significativamente menor con respecto al resto de las especies.

El diámetro polar (DP) ha sido el único caracter que no arrojó diferencias estadísticamente significativas entre las especies.

El que *D. filix-mas* haya sido la especie que mostró los mayores valores en las características cuantitativas puede ser debido a su condición de tetraploide aunque esta premisa no ha sido corroborada en los estudios de esta tesis.

Las especies *D. patula* y *D. wallichiana* se han agrupado en todas las variables analizadas y no han mostrado diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los caracteres. Esto puede deberse a que son especies emparentadas dentro del clado sudamericano y comparten similares características de hábitat, aunque la morfología del esporofito muestra grandes diferencias entre una y otra especie.

Las características cuantitativas analizadas, particularmente el diámetro ecuatorial mayor y la lesura, permitieron segregar las esporas de *D. filix-mas* y *D. wallichiana*, a diferencia de las características de la macro y microornamentación.

Dentro del Cono Sur, se puede establecer que el diámetro ecuatorial mayor y el diámetro polar son las medidas más constantes y con menor variación interna dentro de los 2 géneros analizados. Las características cuantitativas analizadas en estos géneros dentro del Cono Sur de América son útiles para segregar ciertas especies o grupos de especies y podría considerarse su uso en la sistemática de estos grupos.

5.3. CONSIDERACIONES FINALES

Los datos palinológicos se han utilizado ampliamente para dilucidar las relaciones sistemáticas de taxones dentro de los helechos. Así como la realización de otro tipo de investigaciones aerobiológicas para determinar la concentración de esporas en sitios urbanos y sus repercusiones en la salud del hombre.

De esta forma demostraron que los caracteres de esporas son útiles en la clasificación, son filogenéticamente informativos, y también han permitido la calibración de árboles filogenéticos basados en ADN con la edad de las esporas fósiles.

En esta tesis se ha ampliado y compilado la información palinológica de los géneros *Ctenitis* y *Dryopteris* a través del análisis de la morfología, estructura y ultraestructura de

sus esporas. Estos aportes son fundamentales para complementar otros estudios sistemáticos en estos grupos, ya que las características cuantitativas y cualitativas de las esporas tienen diferentes grados de valor diagnóstico en diferentes niveles taxonómicos.

Dryopteris es un grupo notoriamente dificultoso para registrar la delimitación e identificación de las especies. Esto puede atribuirse a características morfológicas importantes que a menudo son crípticas, variaciones debidas a factores geográficos y ecológicos o procesos evolutivos tales como hibridación, poliploidía y apogamia. Estos procesos provocan el desacuerdo entre las clasificaciones morfológicas y moleculares.

Debido a la presencia de esporas rugadas en casi todos los linajes del género *Dryopteris*, podría considerarse como la ornamentación plesiomórfica del género, lo que corresponde a todas las especies analizadas en esta tesis.

El análisis palinológico efectuado a través de la combinación de las distintas metodologías aportó información sobre caracteres cuantitativos y cualitativos de la macro y microornamentación de las esporas. Este análisis representa una valiosa herramienta para futuros estudios como material de referencia para estudios aerobiológicos y paleopalinológicos.

5.4. PROYECCIONES FUTURAS

Se considera importante adicionar otro tipo de estudios para ahondar y dilucidar las causas de las malformaciones observadas en las esporas de los géneros estudiados en esta tesis.

Asimismo, es fundamental realizar estudios sobre el desarrollo esporangial, esporogénesis, citológicos y la viabilidad de las esporas de estas especies, para entender sus mecanismos de reproducción y las posibles alteraciones en sus ciclos de vida.

6. BIBLIOGRAFÍA

Adeniyi, T. A. (2017). *Aeropalynology and allergenicity of pollen in selected locations within Lagos Metropolis, Nigeria*. (Tesis de Doctorado). University of Lagos. Lagos.

Akhmetiev, M. A. (2009). Paleocene and Eocene floristic and climatic change in Russia and Northern Kazakhstan. *Bulletin of Geosciences*, 85, 77-94.

Ayers, D. M. (1963). Some latinisms in scientific terminology. *The Classical Journal*, 58(8), 348-350.

Barrington, D. S., Haufler, C. H., y Werth, C. R. (1989). Hybridization, reticulation, and species concepts in the ferns. *American Fern Journal*, 79(2), 55-64.

Barrington, D. S., Paris, C. A., y Ranker, T. A. (1986). Systematic inferences from spore and stomate size in the ferns. *American Fern Journal*, 76(3), 149-159.

Belling, A. J., y Heusser, C. J. (1974). Spore morphology of the Polypodiaceae of northeastern North America. I. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 101(6), 326-339.

Bennert, H. W., Jäger, W., Bäppler, H., Lubienski, M., Thiemann, R., Viane, R., y Sarazin, A. (2012). *Dryopteris expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins y *D. x ambroseae* Fraser-Jenk. y Jermy (Dryopteridaceae) in North Rhine-Westphalia—identification, distribution and ecology. *Decheniana*, 165, 37-53.

Berry, E. W. (1911). Pteridophyta Dicotyledonae. In W. B. Clark (Ed.). *Lower Cretaceous* (pp. 214-508). Baltimore: Johns Hopkins University Press.

Bir, S. S. (1996). Cytology of some ferns from the Nilgiris, South India III. *Fern Gazette*, 15(4), 141-149.

Bittencourt de Matos, F. (2009). *Sambabaias e Licófitas da RPPN Serra Bonita, Município de Camacan, sul de Bahia, Brasil*. (Tesis de Maestría). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Blasdell, R. F. (1963). A monographic study of the fern genus *Cystopteris*. *Memoirs of the Torrey Botanical Club*, 21(4), 1-102.

Braithwaite, A. F. (1964). A new type of apogamy in ferns. *The New Phytologist*, 63(3), 293-305.

Britton, D. M. (1962). *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray in North America. *Rhodora*, 64(759), 207-212.

Britton, D. M. (1968). The spores of four species of spinulose wood ferns (*Dryopteris*) in Eastern North America. *Rhodora*, 70, 340-347.

- Britton, D. M. (1972). Spore ornamentation in the *Dryopteris spinulosa* complex. *Canadian Journal of Botany*, 50, 1617-1621.
- Britton, D. M. (1972). The spores of *Dryopteris clintoniana* and its relatives. *Canadian Journal of Botany*, 50, 2027-2029.
- Britton, D. M., y Jermy A. C. (1974). The spores of *Dryopteris filix-mas* and related taxa in North America. *Canadian Journal of Botany*, 52, 1923-1926.
- Britton, D. M., y Widén, C-J. (1974). Chemotaxonomic studies on *Dryopteris* from Quebec and Eastern North America. *Canadian Journal of Botany*, 52(3), 627-638.
- Broughton, D. A., y McAdam, J. H. (2003). The current status and distribution of the Falkland Islands Pteridophyte Flora. *Fern Gazette*, 17(1), 21-38.
- Brown, C. A. (1960). What is the role of spores in fern taxonomy? *American Fern Journal*, 50(1), 6-14.
- Brown, R. W. (1962). *Paleocene flora of the Rocky Mountains and Great Plains*. Washington D.C.: U. S. Geological Survey Professional Paper.
- Cabrera, A. L., y Willink, A. (1973). *Biogeografía de América Latina*. Washington: Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos.
- Carlquist, S. (1966). The biota of long-distance dispersal. III. Loss of dispersability in the Hawaiian flora. *Brittonia*, 18, 310-335.
- Carlson, T. J., y Wagner Jr., W. H. (1982). The North American distribution of the genus *Dryopteris*. *Contributions from the University of Michigan Herbarium*, 15, 141-162.
- Ching, R. C. (1938). A Revision of the Chinese and Sikkim-Himalayan *Dryopteris* with reference to some species in the neighboring regions. *Bulletin of the Fan Memorial Institute of Biology. Botanical Series*, 8, 275-334.
- Ching, R. C. (1940). On natural classification of the family Polypodiaceae. *Sunyatsenia. Canton*, 5, 201-306.
- Ching, R. C. (1978). The Chinese fern families and genera: systematic arrangement and historical origin. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 16, 1-19.
- Christensen, C. (1913). A monograph of the genus *Dryopteris*, part I. The tropical American pinnatifid-bipinnatifid species. *Kongelige Danske Videnskabernes selskabs skrifter Naturvidenskabelige og Matematisk Afdeling, serie 7*, 10, 55-282.
- Christensen, C. (1920). A monograph of the genus *Dryopteris*, part II. The tropical American bipinnate-decompound species. *Danske Videnskabernes selskabs skrifter Naturvidenskabelige og Matematisk Afdeling, serie 8*, 6, 3-132.

Christensen, C. (1938). Filicinae. En: F. Verdoorn (Ed.), *Manual of Pteridology* (pp. 522-550). The Hague: M. Nijhoff.

Cieraad, E., y Lee, D. E. (2006). The New Zealand fossil record of ferns for the past 85 million years. *New Zealand Journal of Botany*, 44, 143-170.

Coelho, C. B. (2015). *Dinâmica da deposição dos esporos de Sambabaias e Licófitas do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP.* (Tesis de Doctorado). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.

Collinson, M. (2001). Cainozoic ferns and their distribution. *Brittonia*, 53, 173-235.

Copeland, E. B. (1947). *Genera Filicum*. Waltham: Chronica Botanica Company.

Cox, P. A., y Hickey, R. J. (1984). Convergent megaspore evolution and *Isoetes*. *American Naturalist*, 124, 437-441.

Crabbe, J. A., Jermy, A. C., y Walker, S. (1970). The distribution of *Dryopteris assimilis* S. Walker in Britain. *Watsonia*, 8, 3-15.

Crabbe, J. A., Jermy, A. C., y Mickel, J. T. (1975). A new generic sequence for the pteridophyte herbarium. *Fern Gazette*, 11, 141-162.

Crane, F. W. (1953). Spore studies in *Dryopteris*, I. *American Fern Journal*, 43(4), 159-169.

Crane, F. W. (1955). Comparative study of diploid and tetraploid spores of *Dryopteris dilatata* from Britain and Europe. *Watsonia*, 3, 163-169.

Crane, F. W. (1956). Spore studies in *Dryopteris*. III. *American Fern Journal*, 46(3), 127-130.

Crane, F. W. (1960). A key to american *Dryopteris* species based on characters of the perispore. *American Fern Journal*, 50(4), 270-275.

DeBenedictus, V. M. M. (1969). *Apomixis in ferns with special reference to sterile hybrids*. Michigan: University of Michigan.

de la Sota, E. R. (1973). La distribución geográfica de las Pteridófitas en el Cono Sur de América meridional. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 15, 23-34.

de la Sota, E. R. (1977). Pteridophyta. In: A. L. Cabrera. (Ed.), *Flora de la Provincia de Jujuy*. Colección INTA, Vol. 13.

de la Sota, E. R., Ponce, M. M., Morbelli, M. A., y Cassá de Pazos, L. A. (1998). Pteridophyta. In: M. N. Correa (Ed.), *Flora Patagónica*. Colección INTA, Vol. 8.

Deng, S. (2002). Ecology of the Early Cretaceous ferns of Northeast China. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 119, 93-112.

Devi, S. (1979). Spore types, morphological evolution and phylogeny in the Pteridaceae. *Grana*, 18, 41-46.

Daigobo, S. (1972). Taxonomic studies on the fern genus *Polystichum* in Japan, Ryukyu, and Taiwan. *The Science Report of the Tokyo Kyoiku Diagaku*, 15(224), 57-80.

Ding, H-H., Chao, Y-S., Callado, J. R., y Dong, S-Y. (2014). Phylogeny and character evolution of the fern genus *Tectaria* (Tectariaceae) in the Old World inferred from chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 80, 66-78.

Dong, S-Y. (2010). A new species of *Dryopteris* (Dryopteridaceae) from Hainan Island, China. *Botanical Studies*, 51, 567-542.

Duan, Y., Hennequin S., Rouhan G., Bassuner B., y Zhang L. (2017). Taxonomic revision of the fern genus *Ctenitis* (Dryopteridaceae) from Africa and the Western Indian Ocean. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 102(1), 3-86.

Duncan, R. E. (1943). Origin and development of embryos in certain apogamous forms of *Dryopteris*. *Botanical Gazette*, 105, 202-211.

Ekrt, L., y Koutecký, P. (2016). Between sexual and apomictic: unexpectedly variable sporogenesis and production of viable polyhaploids in the pentaploid fern of the *Dryopteris affinis* agg. (Dryopteridaceae). *Annals of Botany*, 117: 97-106.

Ekrt, L., Trávníček, P., Jarolímová, V., Vít, P., y Urfus, T. (2009). Genome size and morphology of the *Dryopteris affinis* group in Central Europe. *Preslia*, 81, 261-280.

Ekrt, L., Holubová, R., Trávníček, P., y Suda, J. (2010). Species boundaries and frequency of hybridization in the *Dryopteris carthusiana* (Dryopteridaceae) complex: A taxonomic puzzle resolved using genome size data. *American Journal of Botany*, 97(7), 1208-1219.

Erdtman, G. (1952). Pollen morphology and plant taxonomy-Angiosperms. Waltham: The Chronica.

Erdtman, G. (1960). The acetolysis method. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54: 561-564.

Fraser-Jenkins, C. R. (1976). *Dryopteris caucasica* and the cytology of its hybrids. *Fern Gazette*, 11: 263-267

Fraser-Jenkins, C. R. (1981). *Dryopteris* (Pteridophyta: Dryopteridaceae) on Pico Islands in the Azores. *Arquipélago Série Ciências da Natureza*, 2, 83-101.

Fraser-Jenkins, C. R. (1982). *Dryopteris* in Spain, Portugal and Macaronesia. *Boletim da Sociedade Broteriana*, 55: 175-336.

Fraser-Jenkins, C. R. (1986). A classification of the genus *Dryopteris* (Pteridophyta: Dryopteridaceae). *Bulletin of the British Museum, Natural History (Botany)*, 14(3): 183-218.

Fraser-Jenkins, C. R. (1989). A monograph of *Dryopteris* (Pteridophyta: Dryopteridaceae) in the Indian subcontinent. *Bulletin of the British Museum, Natural History (Botany)*, 18(5): 323-477.

Fraser-Jenkins, C. R. (2007). The species and subspecies in the *Dryopteris affinis* group. *Fern Gazete*, 18(1): 1-26.

Fraser-Jenkins, C. R., y Corley, H. V. (1972). *Dryopteris caucasica* – an ancestral diploid in the male fern aggregate. *British Fern Gazette*, 10, 221-231.

Freitas, R. N., O'Connor, P. J., Prakash, A. S., Shahin, M., y Povey, A. C. (2001). Bracken (*Pteridium aquilinum*)-Induced DNA adducts in mouse tissues are different from the adduct induced by the activated form of bracken carcinogen ptaquiloside. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 281, 589-594.

Gabarayeva, N. I., Grigorjeva, V. V., y Márquez, G. (2011). Ultrastructure and development during meiosis and the tetrad period of sporogenesis in the leptosporangiate fern *Alsophila setosa* (Cyatheaceae) compared with corresponding stages in *Psilotum nudum* (Psilotaceae). *Grana*, 50(4), 235-261.

García, P. A., y Salino, A. (2008). Dryopteridaceae (Polypodiopsida) no estado de Minas Gerais, Brasil. *Lundiana*, 9(1): 3-27.

Galán, J.M.G., y Prada, C. (2011). Pteridophyte spores viability. En: A. Kumar, H. Fernández y M. Revilla (Eds.), *Working with Ferns* (pp. 193-205). New York: Springer.

Gastony, G. J., y Ungerer, M. C. (1997). Molecular systematics and revised taxonomy of the onocleoid ferns (Dryopteridaceae: Onocleae). *American Journal of Botany*, 84(6), 840-849.

Gastony, G. J., y Windham, M. D. (1989). Species concepts in Pteridophytes: the treatment and definition of agamosporous species. *American Fern Journal*, 79(2), 65-77.

Geiger, J. M. O., y Ranker T. A. (2005). Molecular phylogenetics and historical biogeography of Hawaiian *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34, 392-407.

Geller-Bernstein, C., Keynan, N., Bejerano, A., Shomer-Ilan, A., y Waisel, Y. (1987). Positive skin tests to fern spore extracts in atopic patients. *Annals of Allergy*, 58(2), 125-127.

Gibby, M. (1983). The *Dryopteris dilatata* complex in Macaronesia and the Iberian Peninsula. *Acta botanica malacitana*, 8, 59-72.

Gibby, M. (1985). Hybridization and speciation in the genus *Dryopteris* (Pteridophyta: Dryopteridaceae) on Pico Island in the Azores. *Plant Systematics and Evolution*, 149, 241-252.

Gibby, M., y Walker, S. (1977). Further cytogenetic studies and a reappraisal of the diploid ancestry in the *Dryopteris carthusiana* complex. *Fern Gazette*, 11(5), 315-324.

Gómez-Noguez, F., Pérez-García, B., Mehlreter, K., Orozco-Segovia, A., y Rosas-Pérez, I. (2016). Spore mass and morphometry of some fern species. *Flora*, 223, 99-105.

Gómez-Noguez, F., Pérez-García, B., Mendoza-Ruiz, A., y Orozco-Segovia, A. (2014). A pluviometric fern spore, fungal spore, and pollen trap. *American Fern Journal*, 104(1), 1-6.

Graham, A. (1991). Studies in neotropical paleobotany. VIII. The Pliocene communities of Panama-Introduction and ferns, gymnosperms, angiosperms (monocots). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 78(1), 190-200.

Graham, A. (1991). Studies in neotropical paleobotany. X. the Pliocene communities of Panama-Composition, numerical representations, and paleocommunity paleoenvironmental reconstructions. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 78(2), 465-475.

Grímsson, F., y Denk, T. (2007). Floristic turnover in Iceland from 15 to 6 Ma-Extracting biogeographical signals from fossil floral assemblages. *Journal of Biogeography*, 34, 1490-1504.

Guarín, F. A., Quijano Abril, M. A., Alvarez, A., y Fonnegra, R. (2015). Atmospheric pollen and spore content in the urban area of the city of Medellín, Colombia. *Hoehnea*, 42(1), 9-19.

Halbritter, H., Ulrich, S., Grímsson, F., Weber, M., Zetter, R., Hesse, M., Buchner, R., Svojtka, M., y Frosch-Radivo, A. (2009). *Illustrated pollen terminology*. 2nd ed. Cham: Springer Open.

Hasebe, M., Wolf, P. G., Pryer, K. M., Ueda, K., Ryosuke Sano, M. I., Gastoni, G. J., Yokoyama, J., Manhart, J. R., Murakami, N., Crane, E. H., Haufler, C. H., y Hauk, W. D. (1995). Fern phylogeny based on rbcL nucleotide sequences. *American Fern Journal*, 85, 134-181.

Haufler, C. H. (1987). Electrophoresis is modifying our concepts of evolution in homosporous pteridophytes. *American Journal of Botany*, 74, 953-966.

Hennequin, S., Rouhan, G., Salino, A., Duan, Y., Lepeigneux, M., Guillou, M., Ansell, S., Almeida, T. E., Zhang, L., y Schneider, H. (2017). Global phylogeny and biogeography of the fern genus *Ctenitis* (Dryopteridaceae), with a focus on the Indian Ocean region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 112, 277-289.

Hernández-Hernández, V., Terrazas, T., y Delgadillo Moya, C. (2009). The *Dryopteris patula* complex (Dryopteridaceae) in Mexico: morphometric analyses. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 85, 103-112.

Hirabayashi, H. (1974). *Cytogeographic studies on Dryopteris of Japan*. Tokyo: Hara Shobo.

Holttum, R. E. (1947). A revised classification of Leptosporangiate Ferns. *Journal Linnean Society*, 53, 123-158.

Holttum, R. E. (1949). The classification of ferns. *Biological Reviews*, 24, 267-296.

Holttum R. E. (1983). The fern-genera *Tectaria*, *Heterogonium* and *Ctenitis* in the Mascarene Islands. *Kew Bulletin*, 38(1), 107-130.

Holttum, R. E. (1984). Studies in the fern-genera allied to *Tectaria*. III. *Aenigmopteris* and *Ataxipteris*, two new genera allied to *Tectaria* Cav., with comments on *Psomiocarpa* Presl. *Blumea*, 30, 1-11.

Holttum R. E. (1985). Studies in the fern genera allied to *Tectaria* Cav. IV. The genus *Ctenitis* in Asia, Malesia and the Western Pacific. *Blumea*, 31, 1-38.

Holttum, R. E. (1986). Studies in the fern-genera allied to *Tectaria* Cav. VI. A conspectus of genera in the Old World regarded as related to *Tectaria*, with descriptions of two genera. *Gardardens' Bulletin Singapore*, 39, 153-167.

Holttum, R. E. (1986). Studies in the fern-genera allied to *Tectaria* Cav. V. *Triplophyllum*, a new genus of Africa and America. *Kew Bulletin*, 41, 237-260.

Holttum, R. E., y Lin, Y. X. (1990). A re-assessment of the fern genus *Pseudotectaria*. *Kew Bulletin*, 45, 257-263.

Hori, K., Tono, A., Fujimoto, K., Kato, J., Ebihara, A., Watano, Y., y Murakami, N. (2014). Reticulate evolution in the apogamous *Dryopteris varia* complex (Dryopteridaceae, subg. *Erythrovariae*, sect. *Variae*) and its related sexual species in Japan. *Journal of Plant Research*, 127, 661-684.

Hornych, O. (2016). *Analysis of spore abortion in ferns*. (Tesis de Maestría). University of South Bohemia, České Budějovice.

Hornych, O., y Ekrt, L. (2017). Spore abortion index (SAI) as a promising tool of evaluation of spore fitness in ferns: an insight into sexual and apomictic species. *Plant Systematics and Evolution*, 303, 497-507.

Hoshizaki B. J., y Wilson K. A. (1999). The cultivated species of the fern genus *Dryopteris* in the United States. *American Fern Journal*, 89(1), 1-98.

Ivanova, D. (2004). *Dryopteris affinis* subsp. *borreri* (Pteridophyta: Dryopteridaceae) in the Bulgarian flora. *Flora Mediterranea*, 14, 201-218.

Itô, H. (1935). Filices Japonenses II. *Botanical Magazine Tokyo*, 49, 432-437.

Itô, H. (1936). Filices Japonenses III. *Botanical Magazine Tokyo*, 50, 32-39.

Itô, H. (1936). Filices Japonenses IV. *Botanical Magazine Tokyo*, 50, 67-72.

Itô, H. (1936). Filices Japonenses V. *Botanical Magazine Tokyo*, 50, 125-128.

Itô, H. (1939). *Ctenitis*. *Nova Flora Japonica*, 4, 205-231.

Jarrett, F. M., Manton, I., y Roy, S. K. (1968). Cytological and taxonomic notes on a small collection of living ferns from Galapagos. *Kew Bulletin*, 22(3), 475-480.

Juslén, A., Väre, H., y Wikström, N. (2011). Relationships and evolutionary origins of polyploid *Dryopteris* (Dryopteridaceae) from Europe inferred using nuclear *pgiC* and plastid *trnL-F* sequence data. *Taxon*, 60(5), 1284-1294.

Kanamori, K. (1967). Origin and early development of apogamous embryos in the prothallia of *Dryopteris chinensis*. *Journal of Japanese Botany*, 42, 111-118.

Kanamori, K. (1969). Studies on the sterility and size variation of spores in some species of Japanese *Dryopteris*. *Journal of Japanese Botany*, 44(7), 207-221.

Kanamori, K. (1971). Studies on the sterility and size variation of spores in some apogamous ferns. *Journal of Japanese Botany*, 46(5), 146-153.

Kessler, M., Moran, R. C., Mickel, J. T., Matos, F. B., y Smith, A. R. (2018). Prodrumus of a fern flora for Bolivia. XXXV. Dryopteridaceae. *Phytotaxa*, 353(1), 1-114.

Koul, K. K., Nagpal, R., y Raina, S. N. (2000). Seed coat microsculpturing in *Brassica* and allied genera (Subtribes Brassicinae, Raphaninae, Moricandiinae). *Annals of Botany*, 86, 385-397.

Kramer, K. U. (1990). Dryopteridaceae. En: K. U. Kramer y P. S. Green (Eds.), *Pteridophytes and gymnosperms*, Vol. 1 (pp. 101-144). Berlin: Springer.

Kuo, L. Y., Chang, Y. H., Glowienka, J. M., Amoroso, V. B., Dong, S. Y., Kao, T. T., Wang, C. N., y Chiou, W. L. (2016). A revised framework of *Dryopteris* subg.

Nothoperanema (Dryopteridaceae) inferred from phylogenetic evidence, with descriptions of two new sections. *Systematic Botany*, 41, 596–605.

Labiak, P. H., Sundue, M., Rouhan, G., Hanks, J. G., Mickel, J. T., y Moran R. C. (2014). Phylogeny and historical biogeography of the Lastreopsid ferns (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany*, 101(7), 1207-1228.

Large, M. F., y Braggins, J. E. (1991). Spore atlas of New Zealand ferns and fern allies. *New Zealand Journal of Botany (Supplementary)*, 29, 1-167.

Lebrão, C., Brandão Coelho, C., y Esteves, M. L. (2014). Morfologia de esporos de pteridófitas de Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil). *Hoehnea*, 41(1), 103-108.

Lee, S. J., Kim, Y. D., Suh, Y., Lee, S. K., y Park, C. W. (2006). Morphological and chromosomal variation of the *Dryopteris varia* (L.) Kuntze complex (Dryopteridaceae) in Korea. *Plant Systematics and Evolution*, 262, 37-52.

Lee, S., y Park, C. (2013). Relationships and origins of the *Dryopteris varia* (L.) Kuntze species complex (Dryopteridaceae) in Korea inferred from nuclear and chloroplast DNA sequences. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50, 371-382.

Lee, S., y Park, C. (2014). Spore morphology of the genus *Dryopteris* Adans. (Dryopteridaceae) in Korea. *Journal of Plant Biology*, 57, 302-311.

Lehnert, M., Krug, M., y Kessler, M. (2017). A review of symbiotic fungal endophytes in lycophytes and ferns—a global phylogenetic and ecological perspective. *Symbiosis*, 17, 77-89.

Lehtonen, S. (2011). Towards resolving the complete fern tree of life. *Plos One*, 6: e24851.

Lellinger, D. B. (2002). A modern multilingual glossary for taxonomic pteridology. *Pteridologia*, 3, 1-263.

Leonhardt, A., y Losscheitter, M. L. (2007). Palinomorfos do perfil sedimentary de uma turfeira em São Francisco de Paula, Planalto Leste do Rio Grande do Sul, Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(1), 47-59.

León Parra, A., y Murillo, M. M. (2005). Listado de especies de la subfamilia Dryopteridoideae, tribus Dryopterideae, Rumhoreae y Tectareae (Familia: Dryopteridaceae) para Colombia. *Biota Colombiana*, 6(1), 87-99.

Le Pechón, T., Zhang, L., He, H., Zhou, X., Gao, X., y Zhang, L. (2016). A well-sampled phylogenetic analysis of the polystichoid ferns (Dryopteridaceae) suggests a

complex biogeographical history involving both boreotropical migrations and recent transoceanic dispersals. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 98, 324-336.

Li, C., y Lu, S. (2006). Phylogenetic analysis of Dryopteridaceae based on chloroplast *rbcL* sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 44: 503-515.

Li, C., y Lu, S. (2006). Phylogenetics of Chinese *Dryopteris* (Dryopteridaceae) based on the chloroplast *rps-trnS* sequence data. *Journal of Plant Research*, 119, 589-598.

Li, C. X., Lu, S. G., y Yang, Q. (2004). Asian origin for *Polystichum* (Dryopteridaceae) based on *rbcL* sequences. *Chinese Science Bulletin*, 49, 874-878.

Liou, W-T., y Wang, J-C. (2013). *Dryopteris ryo-itoana* Kurata (Dryopteridaceae): a newly recorded species in Taiwan. *Taiwan Journal of Forest Science*, 28(1), 43-50.

Liu, H. M., Dyer, R. J., Guo, Z. Y., Meng, Z., Li, J. H., y Schneider, H. (2012). The evolutionary dynamics of apomixis in ferns: a case study from polystichoid ferns. *Journal of Botany*, 2012, 1-11.

Liu, H-M., Zhang, X-C., Wang, M-P., Shang, H., Zhou, S-L., Yan, Y-H., Wei, X-P., Xu, W-B., y Schneider, H. (2016). Phylogenetic placement of the enigmatic fern genus *Trichoneuron* informs on the infra-familial relationship of Dryopteridaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 302, 319-332.

Liu, H-M., Zhang, X-C., Wang, W., Qiu, Y-L., y Chen, Z-D. (2007). Molecular phylogeny of the fern family Dryopteridaceae inferred from chloroplast *rbcL* and *atpB* genes. *International Journal of Plant Sciences*, 168(9), 1311-1323.

Little, D. P., y Barrington, D. S. (2003). Major evolutionary events in the origin and diversification of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany*, 90, 508-514.

Lóriga, J., Schmidt, A. R., Moran, R. C., Feldberg, K., Schneider, H., y Heinrichs, J. (2014). The first fossil of a bolbitidoid fern belongs to the early-divergent lineages of *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany*, 101, 1466-1475.

Lovis, J. D. (1977). Evolutionary patterns and processes in ferns. In R. D. Preston and H. W. Woolhouse (Eds). *Advances in botanical research*, 4, 229-415.

Loyal, D. S. (1959). Some observations on the cytology and apogamy of Himalayan *Dryopteris paleacea* (Don.) Hand-Mazz. *Journal of the Indian Botany Society*, 39, 608-613.

Loyal, D. S. (1960). Some observations on the cytology and apogamy of Himalayan *Dryopteris* (Don) Hand-Mazz. *Journal of Indian Botany Society*, 39, 608-613.

Lu, J. M., Barrington, D. S., y Li, D. Z. (2007). Molecular phylogeny of the polystichoid ferns in Asia based on rbcL sequences. *Systematic Botany*, 32, 26-33.

Lu, J. M., Li, D. Z., Gao, L. M., Cheng, X., y Wu, D. (2005). Paraphyly of *Cyrtomium* (Dryopteridaceae): evidence from rbcL and trnL-F sequence data. *Journal of Plant Research*, 118, 129-135.

Lugardon, B. (1971). *Contribution a la connaissance de la morphogenese et de la structure des parois sporales chez les Filicinées isosporées*. Toulouse: These University Paul Sabatier.

Manton, I. (1950). *Problems of cytology and evolution in the pteridophyta*. Cambridge: Cambridge University Press.

Manton, I., y Walker, S. (1954). Induced apogamy in *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) Gray and *D. filix-mas* (L.) Schott emend, and its significance for the interpretation of the two species. *Annals of Botany, New Series*, 18(71), 377-383.

Márquez, G. J. (2018). Morphology and ultrastructure of *Sphaeropteris* spores (Cyatheaceae) from the Neotropics. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 255, 35-42.

Mehra, P. N., y Loyal, D. S. (1965). Cytological investigations in the Himalayan *Dryopteris* Adanson. *Caryologia*, 18(3), 461-498.

Mehra, P. N., y Verma, S. C. (1957). The cytology of some *Athyrium* species from Northern India. *Annals of Botany*, 21(83), 455-462.

Mehltreter, K. (2008). Phenology and habitat specificity of tropical ferns. En: T. A. Ranker y C. H. Haufler (Eds.), *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes* (pp. 201-222). New York: Cambridge University Press.

Mickel, J. T., y Smith, A. R. (2004). Pteridophytes of Mexico. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 88, 1-1055.

Mitui, K. (1972). Spore ornamentations of Japanese species of *Dryopteris*. *Bulletin Nippon Dental College, General Education*, 1, 99-116.

Molloy, K., y O'Connell, M. (1991). Palaeocological investigations towards the reconstruction of woodland and land-use history at Lough Sheeauns, Connemara, Western Ireland. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 67, 75-113.

Montgomery, J. D. (1982). *Dryopteris* in North America Part II: the hybrids. *Fiddlehead forum*, 9(4), 23-30.

Montgomery, J. D., y Poulton, E. M. (1981). *Dryopteris* in North America. *Fiddlehead forum*, 8(4), 25-32.

Moran, R. C. (1982). The *Asplenium trichomanes* complex in the United States and adjacent Canada. *American Fern Journal*, 72, 5-11.

Moran R. C., Hanks, J. G., y Rouhan, G. (2007). Spore morphology in relation to phylogeny in the fern genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 168(6), 905-929.

Moran, R. C., Prado, J., y Sundue, M. (2014). *Megalastrum* (Dryopteridaceae) in Andean South America, Part I. *American Fern Journal*, 104, 109-178.

Moran, R. C., Hanks, J. G., y Labiak, P. H. (2018). Evolution of spore morphology in the Blechnaceae. *International Journal of Plant Science*, 179(9), 1-18.

Morbelli, M. A. (1980). Morfología de las esporas de Pteridophyta presentes en la región fuego-patagonica República Argentina. *Opera Lilloana*, 28, 1-138.

Morbelli, M. A., y Giudice, G. E. (2005). Spore wall ultrastructure in Aspleniaceae (Pteridophyta) from North-West Argentina. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 135, 131-143.

Morley, R. J. (2003). Interplate dispersal paths for megathermal angiosperms. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 6, 5-20.

Morrone, J. J. (2001). *Biogeografía de América Latina y el Caribe*. Zaragoza: Manuales y Tesis Sociedad Entomológica Aragonesa, Vol. 3.

Morrone, J. J. (2002). Presentación sintética de un nuevo esquema biogeográfico de América Latina y el Caribe. *Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática*, 2, 267-275.

Moy, C. J. (1988). Variations of fern spore ultrastructure as reflections of their evolution. *Grana*, 27, 39-51.

Murillo, M. T., y Bless, M. J. M. (1978). Spores of recent colombian pteridophyta. II. Monolete spores. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 25, 319-365.

Narváez P. L., Martínez O. G., y de la Sota, E. R. (2008). Gametofitos y esporfitos jóvenes de *Dryopteris wallichiana* (Spreng.) Hyl. (Dryopteridaceae - Pteridophyta). *Botanica complutensis*, 32, 85-90.

Nayar, B. K., y Devi, S. (1964). Spore morphology of Indian ferns I. Aspidiaceae. *Grana Palynologica*, 5, 80-120.

Nayar, B. K., y Devi, S. (1966). Spore morphology of the Pteridaceae I. The Pteridoid ferns. *Grana Palynologica*, 6(3), 476-502.

Nayar, B. K., y Devi, S. (1968). Spore morphology of the Pteridaceae. III. The dicksnioid, dennstaedtioid and lindsayoid ferns. *Grana Palynologica*, 8, 185-203.

- Nayar, B. K., y Kaur, S. (1965). Spore morphology of the Lomariopsidaceae. *Journal of Palynology*, 1, 10-26.
- Nee, M. H. (2010). *Flora de la Región del Parque Nacional Amboró - Bolivia. Parte I. Licofitas, Helechos y Gimnospermas*. Santa Cruz de la Sierra: Editorial FAN.
- Palacios Chávez, R., y Rzedowski, J. (1993). Estudio palinológico de las floras fósiles del Mioceno inferior y principios del Mioceno medio de la región de Pichucalco, Chiapas, México. *Acta Botánica Mexicana*, 24, 1-96.
- Pichi Sermolli, R. E. G. (1977). Tentamen Pteridophytorum genera in taxonomicum ordinem redigendi. *Webbia*, 31(2), 313-512.
- Pérez-García, B., Mendoza, A., Reyes Jaramillo, I., y Riba, R. (1999). Morfogénesis de la fase sexual de seis especies mexicanas de helechos del género *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *Revista de Biología Tropical*, 47(1-2), 69-81.
- Pérez-García, B., Mendoza, A., Reyes Jaramillo, I., y Riba, R. (2001). Morfogénesis de la fase sexual de seis especies mexicanas de helechos del género *Dryopteris* (Dryopteridaceae), Parte II. *Revista de Biología Tropical*, 49(1), 265-278.
- Piękoś-Mirkowa, H. (1977). Notes on the taxonomy and distribution of species of the *Dryopteris dilatata* complex in the Caucasus, Siberia and Far East. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 46(4), 577-585.
- Piękoś-Mirkowa, H. (1991). The distribution of the *Dryopteris dilatata* complex in Poland and in Slovakia. *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidg. Tech. Hochschule, Stiftung Rübel, Zürich*, 106, 282-287.
- Pigg, K. B., y Rothwell, G. W. (2001). Anatomically preserved *Woodwardia virginica* (Blechnaceae) and a new filiclean fern from the middle Miocene Yakima Canyon flora of central Washington, USA. *American Journal of Botany*, 88(5), 777-787.
- Ponce, M. M. (1996). Pteridophyta. En: F. O Zuloaga y O. Morrone (Eds.), Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina. I. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*, 60, 1-79.
- Ponce, M. M., y Arana, M. D. (2016). *Dryopteris*. En: A. M. Anton y F. O. Zuloaga (Eds.), *Flora vascular de la República Argentina (Vol. 2). Licofitas, Helechos. Gymnospermae* (pp. 137-140). San Isidro: Instituto de Botánica Darwinion.
- Ponce, M. M., y Martínez O. G. (2012). Flora del Valle de Lerma, Dryopteridaceae. *Aportes botánicos de Salta- Ser. Flora*, 11(8), 1-31.

Ponce, M. M., Mehlreter, K. y de la Sota, E. R. (2002). Análisis biogeográfico de la diversidad pteridofítica en Argentina y Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural*, 75, 703-717.

PPG I. (2016). A community-derived classification for extant lycophytes and ferns - The Pteridophyte Phylogeny Group. *Journal of Systematics and Evolution*, 54, 563-603.

Prada, C. (1990). El papel de la palinología en los estudios actuales sobre pteridófitos. En: J. Rita (Ed.), *Taxonomía, biogeografía y conservación de Pteridófitos* (pp. 39-46). Palma de Mallorca: Societat d'Història Natural de les Balears.

Prado, J., y Hirai, R. Y. (2010). Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo. Pteridophyta: 21. Tectariaceae. *Hoehnea*, 37(2), 367-376.

Prado J., Hirai R. Y., y Smith, A. R. (2014). *Dryopteris huberi* (Dryopteridaceae), an overlooked species, and a key for the species of *Dryopteris* in Brazil. *Brittonia*, 66(4), 340-346.

Pryer, K. M., y Britton, D. M. (1983). Spore studies in the genus *Gymnocarpium*. *Canadian Journal of Botany*, 61(2), 377-388.

Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S., y Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 143, 1-81.

Quintanilla, L. G., y Escudero, A. (2006). Spore fitness components do not differ between diploid and allotetraploid species of *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *Annals of Botany*, 98, 609-618.

Ramos Giacosa, J. P., Morbelli, M. A., y Giudice, G. E. (2009). Spore morphology and wall ultrastructure of *Blechnum* L. species from North West Argentina. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 156, 185-197.

Ramos Giacosa, J. P., Morbelli, M. A., y Giudice, G. E. (2012). Spore morphology and wall ultrastructure of *Anemia* Swartz species (Anemiaceae) from Argentina. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 174, 27-38.

Reed, C. F. (1952). Sporangia and indusia of the genus *Dryopteris* in North America, North of Mexico. *Bartonia*, 27, 47-56.

Reichstein, T. (1981). Hybrids in European Aspleniaceae (Pteridophyta). Significance, recognition, genome analysis, and fertility; checklist of species and hybrids. Description of some new hybrids and cytology of several already known hybrids. *Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft*, 91, 89-139.

- Reinink-Smith, L. M., y Leopold, E. B. (2005). Warm climate in the late miocene of the south coast of Alaska and the occurrence of Podocarpaceae pollen. *Palynology*, 29, 205-262.
- Rich, T. G. C., y Jermy, A. C. (1998). *Plant Crib*. London: BSBI.
- Rodríguez de la Cruz, D., Sánchez-Reyes, E., y Sánchez-Sánchez, J. (2011). Aerobiology of Pteridophyta spores: preliminary results and applications. En: H. Fernández, A. Kumar y M. A. Revilla (Eds.), *Working with Ferns: Issues and Applications* (pp. 271-284). Villamayor: Springer Science+Business Media.
- Roux, J. P. (2011). The fern genera *Dryopteris* and *Nothoperanema* (Dryopteridaceae) in Madagascar and neighbouring Indian Ocean Islands, including Saint Paul. *Adansonia*, 33(1), 7-67.
- Roux, J. P. (2012). A revisión of the fern genus *Dryopteris* (Dryopteridaceae) in sub-Saharan Africa. *Phytotaxa*, 70, 1-118.
- Rowley, J. R. 1973. Formation of pollen exine bacules and microchannels on a glycolyx. *Grana*, 13, 129-138.
- Rowley, J. R., y Nilsson, S. (1972). Structural stabilization for electron microscopy of pollen from herbarium specimens. *Grana*, 12(1), 23-30.
- Rueda, D. (2015). *Botánica sistémica*. Latacunga: Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE.
- Rünk, K., Zobel, M., y Zobel, K. (2012). Biological Flora of the British Isles: *Dryopteris carthusiana*, *D. dilatata* and *D. expansa*. *Journal of Ecology*, 100, 1039-1063.
- Salino A., y Morais P. O. (2003). New combinations in the Tropical American *Ctenitis* (Tectariaceae). *American Fern Journal*, 93(1), 32-35.
- Salino, A., y Ponce, M. M. (2008). Dryopteridaceae. En: F. O. Zuloaga, O. Morrone, y M. J. Belgrano (Eds.), *Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay)*, Vol. 1. Pteridophyta, Gymnospermae, Monocotyledoneae. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical garden, 33-49.
- Salino, A., Almeida, T. E., y Melo, L. C. N. (2009). Dryopteridaceae. En: J. R. Stehmann, R. C. Forzza, A. Salino, M. Sobral, D. P. da Costa, y L. H. Y. Kamino (Eds.), *Plantas da Floresta Atlântica* (pp. 19-25). Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Sano, R., Takamiya, M., Ito, M., Kurita, S., y Hasebe, M. (2000). Phylogeny of the lady fern group, tribe Physematieae (Dryopteridaceae), based on chloroplast rbcL gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 15, 403-413.

Schneller, J., y Krattinger, K. (2010). Genetic composition of Swiss and Austrian members of the apogamous *Dryopteris affinis* complex (Dryopteridaceae, Polypodiopsida) based on ISSR markers. *Plant Systematics and Evolution*, 286, 1-6.

Schuettpelz, E., y Pryer, K. M. (2007). Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes. *Taxon*, 56, 1037-1050.

Schuettpelz, E., y Pryer, K. M. (2009). Evidence for a Cenozoic radiation of ferns in an angiosperm-dominated canopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(27), 11200-11205.

Schwartsburd P. B., y Labiak P. H. (2007). Pteridófitas do Parque Estadual de Vila Velha, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. *Hoehnea*, 34(2), 159-209.

Schwartsburd P. B., Labiak P. H., y Salino, A. (2007). A new species of *Ctenitis* (Dryopteridaceae) from southern Brazil. *Brittonia*, 59(1), 29-32.

Schwerbrock, R. y Leuschner, C. (2017). Foliar water uptake, a widespread phenomenon in temperate woodland ferns? *Plant Ecology*, 5(5), 555-563.

Serbet, R., y Rothwell, G. (2006). Anatomically preserved ferns from the late Cretaceous of western North America. II. Blechnaceae/Dryopteridaceae. *International Journal of Plant Science*, 167, 703-709.

Sessa, E. B., y Givnish, T. J. (2014). Leaf form and photosynthetic physiology of *Dryopteris* species distributed along light gradients in eastern North America. *Functional Ecology*, 28, 108-123.

Sessa, E. B., Zimmer, E. A., y Givnish, T. J. (2012). Phylogeny, divergence times, and historical biogeography of New World *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany*, 99, 730-750.

Sessa, E. B., Zimmer, E. A., y Givnish, T. J. (2012). Reticulate evolution on a global scale: A nuclear phylogeny for New World *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64, 563-581.

Sessa, E. B., Zimmer, E. A., y Givnish, T. J. (2012). Unraveling reticulate evolution in North American *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *BMC Evolutionary Biology*, 12(104), 1-24.

Sessa, E. B., Zhang, L., Väre, H., y Juslén, A. (2015). What we do (and don't) know about ferns: *Dryopteris* (Dryopteridaceae) as a case study. *Systematic Botany*, 40(2), 387-399.

Sessa, E. B., Juslén, A., Väre, H., y Chambers, S. M. (2017). Into Africa: Molecular phylogenetics and historical biogeography of sub-saharan African woodferns (*Dryopteris*). *American Journal of Botany*, 104(3), 477-486.

Sigel, E. M., Windham, M. D., Huiet, L., Yatskjevych, G., y Pryer, K. M. (2011). Species relationships and farina evolution in the cheilantoid fern genus *Argyrochosma* (Pteridaceae). *Systematic Botany*, 36(3), 554-564.

Simán, S. E., Povey, A. C., Ward, T. H., Margison, M. G., y Sheffield, E. (2000). Fern spore extracts can damage DNA. *British Journal of Cancer*, 83, 69-73.

Skog, J. E., y Litwin, R. J. (1995). Reexamination of the fossil fern genus *Dryopterites* Berry based on reproductive characteristics. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 89, 235-256.

Smith, A. R., y Mickel, J. T. (1977). Chromosome counts for Mexican ferns. *Brittonia*, 29, 391-398.

Smith, A. R., Pryer, K. M., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H., y Wolf, P. G. 2006. A classification for extant ferns. *Taxon*, 55, 705-731.

Sundue, M. A., y Rothfels, C. (2014). Stasis and convergence characterize morphological evolution in eupolypod II ferns. *Annals of Botany*, 113, 35-54.

Testo, W., y Sundue, M. (2016). A 4000-species dataset provides new insight into the evolution of ferns. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 105, 200-211.

Testo, W. L., Watkins Jr., J. E., y Barrington, D. S. (2015). Dynamics of asymmetrical hybridization in North American wood ferns: reconciling patterns of inheritance with gametophyte reproductive biology. *The New Phytologist*, 206, 785-795.

Thiers, B. (2020). *Index Herbariorum: A Global Directory of Public Herbaria and Associated Staff*. (<http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>). Acceso 03 de Agosto 2020

Tiffney, B. H. (1985). Perspectives on the origin of the floristic similarity between eastern Asia and eastern North America. *Journal of the Arnold Arboretum of Harvard University*, 66, 73-94.

Tiffney, B. H. (1985). The Eocene North Atlantic land bridge: its importance for Tertiary and modern phytogeography of the Northern Hemisphere. *Journal of the Arnold Arboretum of Harvard University*, 66, 243-273.

Tryon, A. F., y Lugardon, B. (1991). *Spores of the Pteridophyta*. New York: Springer-Verlag.

Tryon, R. M., y Stolze, R. G. (1991). Pteridophyta of Peru. Part IV. 17. Dryopteridaceae. *Fieldiana Botany, New Series*, 27, 1-176.

Tryon, R. M., y Tryon, A. F. (1982). *Ferns and allied plants with special reference to Tropical America*. New York: Springer-Verlag.

Vélez, A., Mejía, M., Salcedo, Y., y Camargo, Y. (2009). Emisiones atmosféricas de origen biológico: generalidades, impactos asociados y medidas de control de aerosoles Fungi. *Revista RE'TAKVN*, 2(1), 19-32.

Vera, E. I. (2010). Oligocene ferns from the Rancahué Formation (Aluminé, Neuquén, Argentina): *Cuyenopteris patagoniensis* nov. gen., nov. sp. (Polypodiales: Blechnaceae/Dryopteridaceae) and *Alsophilocaulis calveloi* Menéndez emend. Vera (Cyatheaales: Cyatheaceae). *Geobios*, 43, 465-478.

Viane, R. L. (1986). Taxonomical significance of the leaf indument in *Dryopteris* (Pteridophyta): I, Some North American, Macronesian and European taxa. *Plant Systematics and Evolution*, 153, 77-105.

Viveros, R. S., y Salino, A. (2015). Two new species of *Ctenitis* (Dryopteridaceae) from South America and taxonomic notes on similar species. *Phytotaxa*, 239, 1-16.

Viveros, R. S., y Salino, A. (2017). A new species and a new combination in *Ctenitis* (Dryopteridaceae) from South America. *Brittonia*, 69(3), 316-322.

Viveros, R. S., Rouhan, G., y Salino, A. (2018). A taxonomic monograph of the fern genus *Ctenitis* (Dryopteridaceae) in South America. *Phytotaxa*, 385(1), 1-83.

Wagner Jr., H. W. (1966). New data on North American oak ferns, *Gymnocarpium*. *Rhodora*, 68, 121-138.

Wagner Jr., W. H. (1971). Evolution of *Dryopteris* in relation to the Appalachians. In: Holt, P. C. (Ed.). The distributional history of the biota of the southern Appalachians, Part II. *Flora Virginia Polytechnic Institute Research Division Monograph*, 2, 147-192.

Wagner Jr., H. W. (1974). Structure of spores in relation to Fern phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 61, 332-353.

Wagner Jr., H. W., y Chen, K. L. (1965). Abortion of spores and sporangia as a tool in the detection of *Dryopteris* hybrids. *American Fern Journal*, 55(1), 9-29.

Wagner Jr., W. H., y Hagenah, J. (1962). *Dryopteris* in the Huron Mountain Club Area of Michigan. *Brittonia*, 14, 90-100.

Wagner Jr., W. H., y Smith, A. R. (1993). Pteridophytes and Gymnosperms. En: Flora of North America Editorial Committee (Ed.), *Flora of North America. North Mexico*, Vol. 2 (pp. 132-135). New York: Flora of North America Editorial Committee.

Wagner Jr., W. H., Wagner, F. S., y Taylor, W. C. (1986). Detecting abortive spores in herbarium specimens of sterile hybrids. *American Fern Journal*, 76(3), 129-140.

Walker, S. (1955). Cytogenetic studies in the *Dryopteris spinulosa* complex 1. *Watsonia*, 3(4), 193-209.

Walker, S. (1959). Cytotaxonomic studies of some American species of *Dryopteris*. *American Fern Journal*, 49(3), 104-112.

Walker, T. G. (1966). A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 66, 169-237.

Walker, T. G. (1973). Additional cytotaxonomic notes on the pteridophytes of Jamaica. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 69, 109-135.

Walker, T. G. (1979). The cytogenetics of ferns. En: A. F. Dyer (Ed.), *The Experimental Biology of Ferns* (pp. 87-132). London: Academic Press.

Walker, T. G. (1985). Some aspects of agamospory in ferns – the Braithwaite system. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, 86, 59-66.

Wang, F-G., Barratt, S., Falcon, W., Fay, M. F., Lehtonen, S., Tuomisto, H., Zing, F-W., y Christenhusz, M. (2014). On the monophyly of subfamily Tectarioideae (Polypodiaceae) and the phylogenetic placement of some associated fern genera. *Phytotaxa*, 164, 1-16.

Wang, Q., Ablaeu, A. G., Wang, Y-F., y Li, C-S. (2006). Paleocene Wuyun flora in Northeast China: *Woodwardia bureiensis*, *Dryopteris* sp. and *Osmunda sachalinensis*. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 44, 712-720.

Watkins Jr., J. E., Churchill, A. C., y Holbrook, N. M. (2016). A site for sori: Ecophysiology of fertile-sterile leaf dimorphism in ferns. *American Journal of Botany*, 103(5), 845-855.

Watkins Jr., J. E., Kawahara, A. Y., Leicht, S. A., Auld, J. R., Bicksler, A. J., y Kaiser, K. (2006). Fern laminar scales protect against photoinhibition from excess light. *American Fern Journal*, 96(3), 83-92.

Werth, C. R., y Windham, M. D. (1991). A model for divergent, allopatric speciation of polyploid pteridophytes resulting from silencing of duplicate-gene expression. *American Naturalist*, 137, 515-526.

Wherry, E. T. (1961). *The fern guide*. New York: Doubleday and Co..

Whittier, D. P. (1970). The rate of gametophytic maturation in sexual and apogamous species of ferns. *Phytomorphology*, 20, 30-35.

Whittier, P., y Wagner Jr., W. H. (1971). The variation in spore size and germination in *Dryopteris* taxa. *American Fern Journal*, 61(3), 123-127.

Widén, C.-J., y Britton, D. M. (1971). A chromatographic and cytological study of *Dryopteris filix-mas* and related taxa in North America. *Canadian Journal of Botany*, 49, 1589-1600.

Widén, C.-J., Britton, D. M., Wagner Jr., H. W., y Wagner, F. S. (1975). Chemotaxonomic studies on hybrids of *Dryopteris* in Eastern North America. *Canadian Journal of Botany*, 53(15), 1554-1567.

Widén, C.-J., Mitsuta, S., y Iwatsuki, K. (1981). Chemotaxonomic studies on *Arachnoides* (Dryopteridaceae) III. Phloroglucinol derivatives of putative hybrids. *The Botanical Magazine, Tokyo*, 94, 127-139.

Wolfe, J. A. (1977). *Paleogene floras from the Gulf of Alaska region*. Washington: U. S. Geological Survey Professional Paper.

Wolfe, J. A., Hopkins, D. M., y Leopold, E. B. (1966). *Tertiary stratigraphy and paleobotany of the Cook Inlet region, Alaska*. Washington: Geological Survey Professional Paper.

Wolfe, J. A., y Tanai, T. (1980). *The Miocene Seldovia Point flora from the Kenai Group, Alaska*. Washington: U. S. Geological Survey Professional Paper.

Wood, T. E., Takebayashi, N., Baker, M. S., Mayrose, I., Greenspoon, P. B., y Rieseberg, L. H. (2009). The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(33), 13875–13879.

Wu, S. G., y Lu, S. G. (2000). *Dryopteris*. En: C. Y. Wu (Ed.), *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (pp. 102-220). Beijing: Science Press.

Xiang, J.-Y., Cheng, X., y Wu, S.-K. (2006). Chromosome numbers of 13 species in the genus *Dryopteris* (Dryopteridaceae) from Yunnan, China. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 44, 304–319.

Yamakawa, C., y Konishi, S. (2013). Fossil fern fronds from the early Pleistocene Kobiwako Group in Minakuchi, Shiga Prefecture, central Japan. *Journal of Fossil Research*, 45(2), 61-69.

Yáñez, A. 2015. *Estudios morfológicos y ultraestructurales en esporas de Dennstaedtiaceae de la Provincia Fitogeográfica Paranaense*. (Tesis de Doctorado) Universidad Nacional de La Plata, La Plata.

Ybert, J. P., Carvalho, M. A., y Scheel-Ybert, R. (2012). *Dicionário temático de morfologia esporopólica*. Rio de Janeiro: Museu Nacional - Série Livros.

Zenkter, E. (2012). Morphology and peculiar features of spores of fern species occurring in Poland. *Acta Agrobotanica*, 65(2), 3-10.

Zhang, L-B. (2012). Reducing the fern genus *Dryopsis* to *Dryopteris* and the systematics and nomenclature of *Dryopteris* subgenus *Erythrovariae* section *Dryopsis* (Dryopteridaceae). *Phytotaxa*, 71, 17-27.

Zhang, L-B., y Zhang, L. (2012). The inclusion of *Acrophorus*, *Diacalpe*, *Nothoperanema*, and *Peranema* in *Dryopteris*: The molecular phylogeny, systematics, and nomenclature of *Dryopteris* subg. *Nothoperanema* (Dryopteridaceae). *Taxon*, 61, 1199-1216.

Zhang, K. M., Zhang, B. D., Liu, Y., Fang, M., Shi, L., y Tang S. J. (2011). Studies on the gametophytes of eight chine species of *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *American Fern Journal*, 101(1), 12-24.

Zhang, L., Zhang, L., Dong, S., Sessa, E. B., Gao, X., y Ebihara, A. (2012). Molecular circumscription and major evolutionary lineages of the fern genus *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *BMC Evolutionary Biology*, 12, 1-15.

Zhang, L., Wu, S., Xiang, J., Xing, F., He, H., Wang, F., Lu, S., Dong, S., Barrington, D. S., Iwatsuki, K., Christenhusz, M. J. M., Mickel, J. T., Kato, M., y Gilbert, M. G. (2013). Dryopteridaceae. En: Z. Wu, P. H. Raven y D. Hong. (Eds.), *Flora of China*, Vol. 2-3 (pp. 542-724). Beijing: Science Press.

Zhang, L., Schuettpelz, E., Rothfels, C. J., Zhou, X-M., Gao, X-F., y Zhang, L-B. (2016). Circumscription and phylogeny of the fern family Tectariaceae based on plastid and nuclear markers, with the description of two new genera: *Draconopteris* and *Malaifilix* (Tectariaceae). *Taxon*, 65, 723-738.

Zuloaga, F. O., Belgrano, M. J., y Zanotti, C. A. (2019). An update of the Catalogue of the Vascular Plants of the Southern Cone. *Darwiniana, nueva serie*, 7(2), 208-278.