

MORFOLOGÍA Y ULTRAESTRUCTURA DE LAS ESPORAS DE *NEPHROLEPIS CORDIFOLIA* (DAVALLIACEAE) DEL NOROESTE DE ARGENTINA

M. RAQUEL PIÑEIRO¹ y MARTA A. MORBELLI¹

Summary: Spore morphology and wall ultrastructure in *Nephrolepis cordifolia* (Davalliaceae) from North-West Argentina. The family Davalliaceae is represented in the study area by the genus *Nephrolepis*, with only one species *N. cordifolia*. The study was based on herbarium and fresh material and the spores were studied under light microscope, scanning electron microscope and transmission electron microscope. The spores are monoete, the shape in polar view is ellipsoidal, and have a rugate surface, 20 µm in polar diameter (mean), 35 µm in mayor equatorial diameter (mean). Mature spores have a sporoderm composed of exospores and perispore. The exospore is two-layered, 1,3 to 2,6 µm thick, verrucate. The perispore is two layered, 920 nm to 2,75 µm thick, with verrucae and tubercles. The spores of Davalliaceae show some similarities with the spores of *Microgramma*, *Pecluma* y *Polypodium* (Polypodiaceae), referred to spore type, but differ from the last ones in size and sporoderm structure. The ornamentation of the spores of the Polypodiaceae is determined by the exospore, while in *Nephrolepis* the ornamentation is determined by the perispore.

Key words: Davalliaceae, *Nephrolepis*, spores, morphology, sculpture, ultrastructure, Argentina.

Resumen: La familia Davalliaceae se encuentra representada en el Noroeste argentino por el género *Nephrolepis*, con una única especie *N. cordifolia*. El estudio se realizó en base a material de herbario y fresco. La observación se realizó con microscopios óptico y electrónicos de barrido y transmisión. Las esporas son monoletes, de forma elipsoidal, superficie rugada, miden en promedio 20 µm de diámetro polar y 35 µm de diámetro ecuatorial mayor. La esporodermis está constituida por dos paredes: exosporio y perisporio. El exosporio, 1,3-2,6 µm de espesor, presenta procesos verrucosos, y consta de 2 capas. El perisporio, 920 nm-2,75 µm de espesor, con procesos verrucosos y tuberculados, con dos capas. Las esporas de las Davalliaceae muestran cierta similitud con las esporas de *Microgramma*, *Pecluma* y *Polypodium* (Polypodiaceae), en cuanto al tipo de esporas aunque se diferencian de las mismas por el tamaño, y por la estructura de la esporodermis. La ornamentación en las Polypodiaceae está dada por el exosporio, mientras que en *Nephrolepis* es el perisporio quien la determina.

Palabras clave: Davalliaceae, *Nephrolepis*, esporas, morfología, escultura, ultraestructura, Argentina.

INTRODUCCIÓN

El objetivo del presente estudio es sumar a la Flora del Noroeste argentino, el tratamiento palinológico de una de las 23 familias citadas para la región, las Davalliaceae.

La zona de estudio se ubica en el noroeste de Argentina, aproximadamente entre los 21° 45'-30° L.S. y los 62° 20'- 69° 30' L.W. Comprende la totalidad de las provincias de Jujuy, Salta,

Catamarca y Tucumán, mitad noroeste de La Rioja y sudoeste de Santiago del Estero, cubriendo una superficie total de 380.000 km² (de la Sota, 1972, 1973).

La familia Davalliaceae es una familia predominantemente tropical, representada por plantas terrestres o epifitas, aproximadamente 15 géneros y 200 especies (de la Sota, 1977).

En Argentina el género *Nephrolepis* se halla representado por una única especie: *N. cordifolia* (L.) C. Presl (Ponce, 2008); los ejemplares del noroeste tal vez sean plantas escapadas de cultivo que se han naturalizado en áreas próximas a los grandes núcleos urbanos (de la Sota, 1973, 1977).

Las esporas del género *Nephrolepis* fueron

¹ Cátedra de Palinología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

analizadas por varios autores. Harris (1955) describe las esporas, para especies de Nueva Zelanda, como monoletes, de simetría bilateral, cóncavo-elípticas en vista polar, ocasionalmente esferoidales y superficie verrucosa. Nayar (1964) y Braggio (1966) las estudiaron y analizaron con MEB y las describieron como desprovistas de perisporio.

Erdtman & Sorsa (1972) estudiaron las esporas de las Davalliaceae y describieron las esporas del género *Nephrolepis* con ornamentación verrucosa.

La ubicación del género *Nephrolepis* en la familia Davalliaceae es dudosa. Algunos autores como Devi (1977) consideraron a *Nephrolepis*, en base a las características de sus esporas, dentro de la familia Oleandraceae, junto a los géneros *Oleandra* Cavanilles y *Arthropteris* J. Sm. En ese mismo año, Liew estudiando las esporas de Oleandraceae al MEB, excluyó a *Nephrolepis* de esta familia, dejando sólo los géneros *Oleandra* y *Arthropteris* y sugirió considerar a este género dentro de una nueva familia, Nephrolepidaceae.

En base a la superficie tuberculada de las esporas y estructura de los estomas, Tryon & Tryon (1982) consideraron a este género dentro de la familia Davalliaceae.

Large & Braggins (1991) describen las esporas para especies de Nueva Zelanda, con perisporio tuberculado y exosporio casi liso; diferenciando las especies de esta región, entre las que figura *N. cordifolia*, por la densidad y posición de los tubérculos.

En 1991, Tryon & Lugardon al analizar las esporas de *Nephrolepis* en sección, observaron características similares entre éstas y las de *Gymnogrammitis* (Davalliaceae), y en la especie *N. cordifolia* describieron la presencia de esporas con inusual forma esferoidal, debido a posibles formas de hibridación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio palinológico se realizó en base a material de herbario del Museo de Ciencias Naturales de La Plata-UNLP (LP), del Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro (SI) y del Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes (CTES).

Entre el material de herbario disponible y analizado no se encontraron ejemplares fértiles del noroeste argentino. Por tal razón se incluyeron ejemplares de

Bolivia, región muy próxima al noroeste argentino, como así también de Córdoba y Misiones.

Material estudiado: ARGENTINA. *Prov. Córdoba*, cultivado, Castellanos (LP, SI 24104), MP 4176; *Prov. Misiones*: Caingúas, Ruta Nac. 14, Keller & Franco 4075 (CTES), MP 4175.

BOLIVIA. *Prov. Guarayos*, San Cruz, Nee (SI 41704), MP 4177.

Parte del material fue tratado con CO_3Na_2 (3 %) en caliente y acetolizado (Erdtman, 1960). Para el análisis al MO las esporas se montaron en glicerina-gelatina; las observaciones y mediciones se efectuaron con microscopios ópticos, Olympus CH-2 y BH-2.

Para el estudio con microscopio electrónico de barrido (MEB) las esporas fueron montadas sobre cinta bifaz, sin tratamiento previo y posteriormente metalizadas con oro-paladio. Las observaciones se realizaron con un microscopio JEOL, JSMT-100.

Para el estudio con microscopio electrónico de transmisión (MET) se utilizó material fresco y de herbario. El material fue hidratado según la técnica propuesta por Rowley & Nilsson (1972) con solución de alcian blue (AB) en buffer de Fosfato al 1%, y fijado en glutaraldehído más solución de alcian blue al 1% en buffer de Fosfato, durante 12 horas. La post-fijación se realizó con tetróxido de osmio al 1%, en solución acuosa más alcian blue al 1% en buffer de Fosfato. Las esporas fueron deshidratadas en series sucesivas de acetona 30% al 100% y luego embebidas en resina Spurr (1969). Las secciones de 3 μm de espesor, fueron teñidas con azul de toluidina y observadas con MO. Los cortes ultrafinos fueron teñidos con acetato de uranilo (1%) por 15 minutos, y luego con citrato de plomo por 3 minutos. Las observaciones fueron realizadas con un microscopio Zeiss T-109, de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP.

Para la descripción de las esporas se siguió la terminología empleada por Lellinger & Taylor (1997), Punt *et al.* (2007) y Tryon & Lugardon (1991).

RESULTADOS

Las esporas del género *Nephrolepis* son monoletes, de simetría bilateral, elipsoidales en

vista polar y plano, convexas en vista ecuatorial, miden en promedio 20 μm de diámetro polar y 35 μm de diámetro ecuatorial mayor. La lesura mide 19 μm de longitud. La esporodermis está formada por dos paredes: exosporio, con procesos verrucosos y perisporio con procesos verrucosos y tuberculados (ornamentación rugada).

AL MO

El exosporio es castaño claro, ornamentado, con verrugas (Fig. 1 G). En sección, el exosporio tiene un espesor de 1,3 a 2,6 μm (entre y con procesos respectivamente). El perisporio es castaño.

AL MEB

Los elementos ornamentales están principalmente distribuidos sobre la cara distal. Los mismos pueden estar aislados (Fig. 1 C y D), o fusionados formando lomos irregulares (Fig. 1 E y G). En algunas esporas, sobre la superficie de los elementos ornamentales hemos observado pequeños glóbulos de formas irregulares (Fig. 1 Cabeza de flecha). Es posible observar entre las verrugas, pequeñas “fóveas” (Fig. 1 D, flechas).

AL MET

Ambas paredes, exosporio y perisporio, presentan estructura homogénea. En el exosporio se observan dos capas: una interna (Ei), más contrastada, delgada, de 330 nm de espesor, y otra externa (Ee), menos contrastada, gruesa, de 2 μm de espesor. El margen externo del exosporio presenta protuberancias más anchas que altas. En el seno del exosporio se observan canales con orientación radial, interconectados y ramificados hacia la parte interna (Fig. 1 G).

El perisporio tiene un espesor de 920 nm a 2,75 μm y está formado por dos capas. Una capa interna (Pi), gruesa, con un espesor irregular de 400 nm a 1,7 μm (entre y con procesos respectivamente), fuertemente contrastada. La capa externa (Pe) es delgada, de 80 a 200 nm de espesor, menos contrastada que la interna, de forma irregular y tapiza a la interna sin modificar las elevaciones de la misma (Fig. 1 G).

Presencia de esporas atípicas: en el ejemplar Leg. Castellanos 24104 (SI), en muestras de esporangios maduros de pínulas de un mismo sector, hemos observado entre las esporas maduras y en una alta proporción, la presencia de esporas monoletes hialinas, de paredes delgadas y laevigadas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En relación a la forma de las esporas, en nuestro material no hemos encontrado esporas esferoidales (Tryon & Lugardon, 1991), sin embargo se observan esporas atípicas.

Coincidimos con Harris (1955) y Large & Braggins (1991) en observar la superficie del perisporio ornamentada con verrugas, pero no encontramos que el exosporio sea casi liso. Los procesos ornamentales tanto en el exosporio como en el perisporio son heteromórficos y heterométricos, representados fundamentalmente por verrugas, en el exosporio y, verrugas y tubérculos de formas irregulares, en el perisporio (rugado). Algunos procesos del perisporio se unen formando lomos irregulares. Si bien los elementos ornamentales están presentes sobre ambas caras, éstos son predominantes sobre la distal.

Las esporas de *Nephrolepis* estudiadas presentan características comunes con las del resto de los géneros de la familia Davalliaceae. En relación a la dudosa ubicación sistemática de *Nephrolepis*, hemos considerado al género dentro de la familia Davalliaceae, según el criterio seguido por de la Sota (1977).

Dentro de esta familia, *Nephrolepis* es el género que presenta las esporas más pequeñas, ya que éstas no superan los 35 μm de diámetro ecuatorial mayor; en el resto de los géneros pueden llegar a medir hasta 90 μm de diámetro como las esporas de *Gymnogrammitis*, que presenta los mayores tamaños de esporas dentro de la familia.

Si comparamos las esporas de las Davalliaceae con las del resto de las familias estudiadas para la Flora del Noroeste de Argentina, podemos evidenciar cierta similitud entre las esporas de *Nephrolepis cordifolia* y las de los géneros *Microgramma*, *Pecluma* y *Polypodium*, de la familia Polypodiaceae, en cuanto al tipo de esporas monoletes y la superficie verrucoso-tuberculada. Se diferencian de las Polypodiaceae (Giudice *et al.*, 2004; Morbelli & Giudice, 2010) en el tamaño, ya que las esporas de *Nephrolepis* presentan diámetros menores que oscilan entre 20-35 μm de diámetro ecuatorial mayor; las Polypodiaceae pueden llegar a medir entre 40-90 μm . También presentan diferencias a nivel de la estructura de la esporodermis, ya que la ornamentación en las Polypodiaceae está dada por el exosporio, mientras

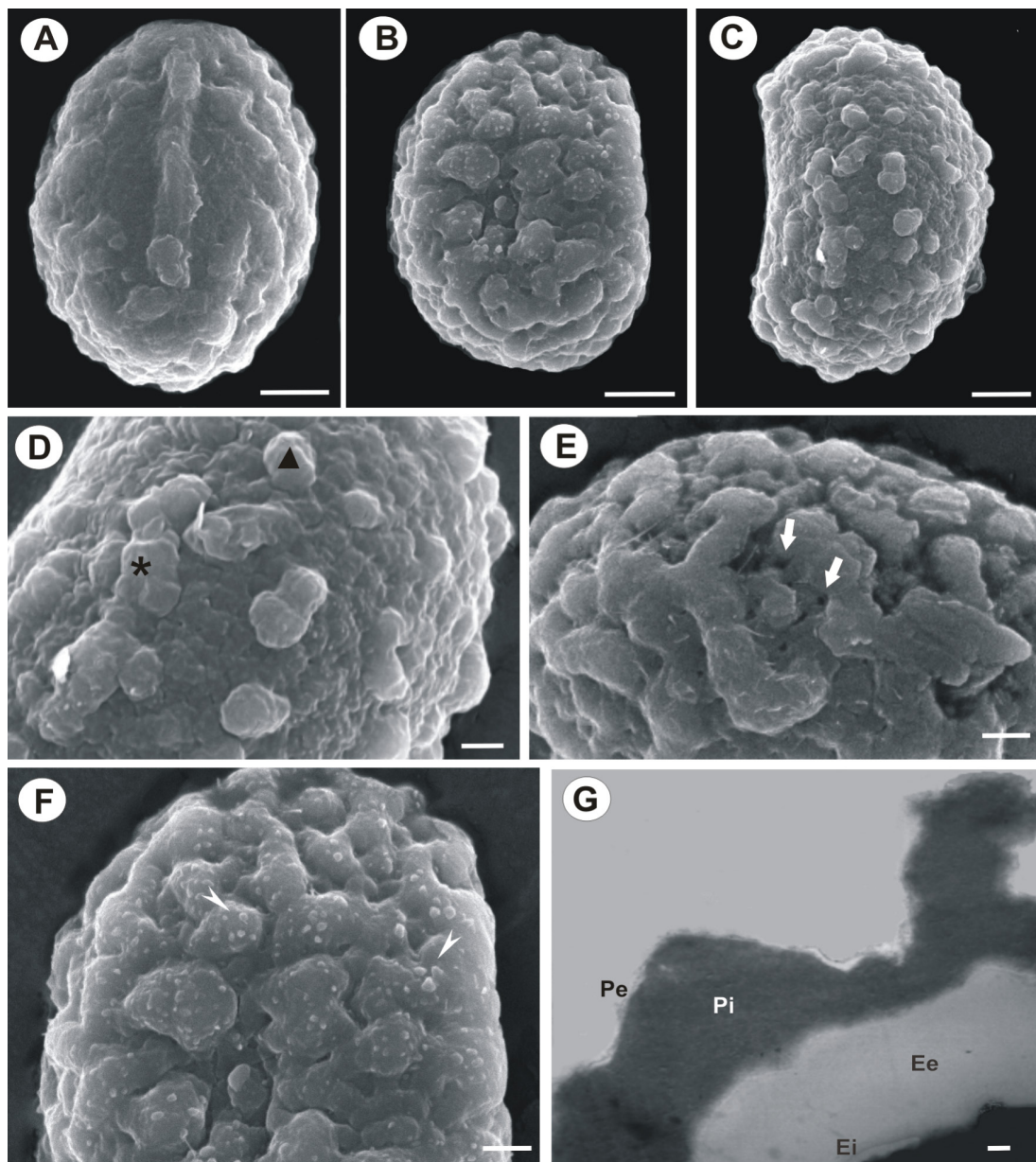


Fig. 1. Esporas de *Nephrolepis cordifolia* con MEB y MET. **A:** Vista proximal de una espora monolete, donde se observa la lesura y la superficie ornamentada. **B-C:** Vistas distal y ecuatorial respectivamente. Se observan los procesos ornamentales con forma de verrugas y tubérculos, algunos de los cuales se visualizan como elementos aislados y otros más o menos fusionados. **D:** Detalle de la superficie definida como, rugada, con procesos irregulares fusionados, formando lomos (asterisco) y otros de forma aislada (triángulo). **E:** Detalle de la superficie distal donde se observan pequeñas foveas (flechas) entre los procesos ornamentales. **F:** Detalle de la superficie donde es posible observar sobre los procesos ornamentales pequeños glóbulos (cabeza de flecha). **G:** Espora en sección donde es posible observar dos paredes, el exosporio, constituido por dos capas, una externa (Ee) y otra interna (Ei), y el perisporio, más contrastado, formado también por dos capas, una externa (Pe) y otra interna (Pi), delgada. Escalas: A, B, C: 5 μ m; D, E, F: 2 μ m, G: 200 nm.

que en las esporas de *Nephrolepis* es el perisporio quien la determina.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras desean expresar su agradecimiento al Lic. Rafael Urrejola de la Unidad de Microscopía Electrónica de Barrido, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Este trabajo fue financiado con fondos aportados por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET (PIP 5044 y 1085), la Agencia Nacional para la Promoción de la Ciencia y Tecnología, ANPCyT (PICT 12758) y la Universidad Nacional de La Plata (Proyectos 451 y 584).

BIBLIOGRAFÍA

- BRAGGIO, G. 1966. Morfología delle spore e systematica delle Davalliaceae. *Webbia* 21: 725-767.
- DEVI, S. 1977. *Spores of Indian ferns*. Today & Tomorrow's printers publishers. New Delhi.
- ERDTMAN, G. 1960. The acetolysis method. A revised description. *Sv. Bot. Tidsskr.* 54: 561-564.
- ERDTMAN, G. & P. SORSA. 1972. *Pollen and spore. Morphology/Plant Taxonomy, Pteridophyta*. 300 pp. Almqvist & Wiksell, Stockholm.
- GIUDICE, G.E., M.A. MORBELLI, M.R. PIÑEIRO, M. COPELLO & G. ERRA. 2004. Spore morphology of the Polypodiaceae from the Northwest Argentina. *Amer. Fern J.* 94: 9-27.
- HARRIS, W.F. 1955. A Manual of the spores of New Zealand pteridophyta. *New Zealand Department of Scientific and Industrial Research, Bulletin 116*, 186 pp. Wellington, New Zealand.
- LARGE, M.F. & J.E. BRAGGINS. 1991. Spores atlas of New Zealand ferns & fern allies. Supplement to *New Zealand Journal of Botany*, vol 29: 1-68. Wellington, New Zealand.
- LELLINGER, D.B. & W.C. TAYLOR. 1997. A classification of spore ornamentation in the Pteridophyta. In: John R.J. (ed.), *Holtum Memorial Volume. Royal Botanic Gardens, Kew*: 32-42.
- LIEW, F.S. 1977. Scanning electron microscopical studies on the spores of Pteridophytes. 11. The family Oleandraceae (*Oleandra*, *Nephrolepis* and *Arthropteris*). *Gard. Bull.* 30: 101-110.
- MORBELLI, M.A. & G.E. GIUDICE. 2010. Spore wall ultrastructure of Polypodiaceae from north-western Argentina. *Grana* 49: 204-214.
- NAYAR, B.K. 1964. *Palynology of modern pteridophytes*, in: *Advances in Palynology*, 438 pp., ed. P.K.K. Nair Lucknow. Nat. Bot. Gard.
- PONCE, M.M. & E.R. de la SOTA. 2008. *Davalliaceae. Catálogo de las plantas vasculares del cono sur*. In F. Zuloaga, O. Morrone & M. Belgrano (Eds.), Vol.1, 161 pp., Pteridophyta, Gymnospermae y Monocotyledonae.
- PUNT, W., P.P. HOEN, S. BLACKMORE, S. NILSSON & A. LE THOMAS. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. Rev. 2nd. ed. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 143.
- ROWLEY, J. & J. NILSSON. 1972. Structural stabilisation for electron microscopy of pollen from herbarium specimens. *Grana* 12: 23-30.
- SOTA, E.R., de la. 1972. Sinopsis de las Pteridofitas del Noroeste de Argentina I. *Darwiniana* 17: 11-103.
- SOTA, E.R., de la. 1973. Sinopsis de las Pteridofitas del Noroeste de Argentina II, *Darwiniana* 18: 173-263.
- SOTA, E.R. de la. 1977. Pteridophyta. En Cabrera, A.L., Flora de la Provincia de Jujuy, *Colección Científica del INTA*, Tomo XIII: 14-275.
- SPURR, A.R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructural Research* 26: 31-43.
- TRYON, R.M. & A.F. TRYON. 1982. *Ferns allied plants*. Springer-Verlag, 857 pp.
- TRYON, A.F. & B. LUGARDON. 1991. *Spores of the Pteridophyta, Surface, wall structure and diversity based on electron microscope studies*, 648 pp. Springer-Verlag.

Recibido el 16 de junio de 2011, aceptado el 7 de diciembre de 2011.

