

ENDODERMIS FOLIARES EN EL GÉNERO *ISOETES* L. (ISOETACEAE)

Cristina H. ROLLERI y Carmen PRADA

RESUMEN. *Endodermis foliares en el género Isoetes L. (Isoetaceae).* La presencia y naturaleza de la endodermis en microfílos de 18 taxones de *Isoetes* se puso de manifiesto con técnicas microquímicas de coloración con TBO y mediante fluorescencia intrínseca (autofluorescencia). Las especies estudiadas son: *I. adspersa*, *I. andina*, *I. boliviensis*, *I. boryana*, *I. bronchonii*, *I. durieui*, *I. echinospora*, *I. engelmannii*, *I. histrix*, *I. lacustris*, *I. lechleri*, *I. longissima*, *I. malinverniana*, *I. melanopoda*, *I. setacea*, *I. storkii*, *I. velata* subsp. *velata*, *I. velata* subsp. *asturicense*. Desde el punto de vista morfológico se reconocen tres tipos de endodermis, que coexisten en la misma hoja. Una endodermis primaria con bandas de Caspary, que se desarrolla inicialmente rodeando los canales intrastelares, pero que evolucionaría hacia endodermis secundaria (con engrosamientos «en U»), ya que éste es el tipo que se encuentra en torno de los canales intrastelares en microfílos de todas las especies estudiadas. También se forma una endodermis secundaria (con engrosamientos «en U»), parcial o completa, rodeando las cámaras aeríferas, en todas las especies estudiadas. Las especies que crecen a mayor altura sobre el nivel del mar pueden desarrollar en esta zona una endodermis terciaria (con engrosamientos «en O»). La endodermis de las cámaras aeríferas está menos desarrollada o desaparece en la porción del microfílo que se encuentra hundida en el sustrato, no así la endodermis de los canales intrastelares. La función reguladora del flujo de agua y metabolitos entre el haz vascular y el mesofilo explicaría tanto la presencia como la especialización de estas capas en microfílos sujetos a estrés hídrico.

Palabras clave. *Isoetes*, microfílos, anatomía, endodermis, estrés hídrico

ABSTRACT. *Foliar endodermis in genus Isoetes L. (Isoetaceae).* Microchemical analysis with TBO, and intrinsic fluorescence (autofluorescence) were used to detect the presence and occurrence of endodermis in microphylls of 18 taxa of genus *Isoetes* (*I. adspersa*, *I. andina*, *I. boliviensis*, *I. boryana*, *I. bronchonii*, *I. durieui*, *I. echinospora*, *I. engelmannii*, *I. histrix*, *I. lacustris*, *I. lechleri*, *I. longissima*, *I. malinverniana*, *I. melanopoda*, *I. setacea*, *I. storkii*, *I. velata* subsp. *velata*, *I. velata* subsp. *asturicense*). From a morphological point of view, three known endodermal types can be found in the microphylls, and they also coexist in the same leaf. Casparian strips are developed in a primary endodermis that surrounds intrastelar canals, which probably progress to a secondary endodermis (with «U thickenings»), since microphylls of all studied species bear secondary, suberized and lignified endodermis in every intrastelar canal. A secondary or even a tertiary lignified endodermis develops in mesophyll cells of the central area of the leaf next to the air chambers; secondary endodermis occurs in all studied species, and tertiary endodermis was found only in species that live in bogs, moors or seasonal swamps, at the higher altitudes in the Southamerican Andes. Endodermis of the air chambers become thinner or disappears in the buried part of the microphylls, while the endodermis of intrastelar canals does not change. Comments are made on the adaptive significance of specialized endodermal layer in aquatic, amphibious and terrestrial species. The participation of the endodermis in the regulation of the loss of water and metabolites from the vascular system to the mesophyll could be an explanation of the presence of these layers.

Key words. *Isoetes*, microphylls, anatomy, endodermis, hydric stress

INTRODUCCIÓN

La endodermis es una capa que actúa en la regulación del paso de agua e iones, redirigiendo la vía apoplástica habitual en las células corticales de la raíz hacia la vía simplástica en las células endodérmicas, es decir, forzando al flujo de líquido a discurrir solamente por los protoplastos vivos de estas células. Sirve no sólo como una capa que separa regiones con diferente presión osmótica sino como una zona que, eventualmente, evita el paso y la consecuente pérdida de nutrientes desde los tejidos vasculares hacia la corteza, canalizando el flujo de agua y manteniéndolo confinado al ámbito del xilema. Aunque la endodermis es típica de las raíces y suele faltar en ejes leñosos, también se puede presentar en tallos y hojas de plantas herbáceas que crecen en condiciones ecológicas particulares, como las xeromorfas o las anfibias.

La endodermis presenta diferentes aspectos en el curso de su desarrollo: en una primera etapa se depositan puntos o bien una delgada banda de sustancias polifenólicas y grasas insaturadas en las paredes radiales de las células, dando origen a los puntos y bandas de Caspary; este tipo se ha denominado endodermis primaria y es uno de los más frecuentes. Luego puede tener lugar una nueva depositación de sustancias grasas que involucran no sólo las paredes radiales sino las tangenciales internas de las células endodérmicas, dando origen a la endodermis secundaria o con engrosamientos "en U". En las etapas primaria y secundaria, los engrosamientos se interpretan como compuestos por suberina (Esau, 1959; Metcalfe, 1979; von Denffer, 1986) o endodermína (Frey-Wyssling, 1959; von Denffer, 1986). En una etapa subsiguiente se deposita celulosa en gran cantidad hacia el lumen celular y a veces, en lo que algunos autores consideran una cuarta etapa, se depositan

sustancias grasas y polifenólicas adicionales que incrustan todas las paredes celulares; se forman así las endodermis terciarias o con engrosamientos "en O" (Metcalfe, 1979). En estas endodermis la incrustación suele ser selectiva y algunas células, situadas frente a elementos de xilema conservan la pared primaria y no adquieren engrosamientos (células de paso). La frecuente lignificación de las paredes en endodermis terciarias impide, por lo general, la percepción de la suberina primigenia por medios microquímicos y predominan las respuestas positivas a las pruebas para lignina.

Numerosos autores se han ocupado de los aspectos morfológicos, ontogenia, desarrollo y fisiología de la endodermis, entre ellos Eames & MacDaniels (1947), Esau (1959), Frey-Wyssling (1959), Sculthorpe (1971), Metcalfe (1979) y Mauseth (1988). Sculthorpe (1971) estudió en detalle su función en plantas acuáticas y Metcalfe (1979) efectuó una revisión bibliográfica y resumió lo conocido hasta entonces, incluyendo comentarios sobre el desarrollo de la endodermis y las condiciones ecológicas particulares de algunas plantas que la presentan.

Isoetes es un género cosmopolita que se encuentra adaptado a la vida como planta acuática (permanentemente sumergida), anfibia (palustre, estacionalmente expuesta) o terrestre, en pantanos, charcas, lagos, lagunas, turberas, etc., desde el nivel del mar hasta grandes altitudes (2000 m en áreas montañosas de Europa y más de 4000 m en los superpáramos y páramos andinos de Sudamérica). Ocasionalmente existen formas de aguas corrientes, aunque son menos comunes que las que habitan en aguas quietas.

Los microfílos de *Isoetes* presentan endodermis en los canales intrastelares, así designados por Hall (1971). La presencia de esa capa se conoce desde hace más de un

siglo y ha sido mencionada por Janczeski (1882), en Scott & Hill (1900), para *I. durieui*; por Scott & Hill (1900), para *I. hystrix*; por Sadebeck (1902) para *I. lacustris* y por West & Takeda (1915), para *I. japonica*. Más recientemente, Romeo *et al.* (2000), la ilustran en *I. durieui* y la ponen en evidencia mediante fluorescencia inducida por colorantes, indicando que se desarrolla en el canal intrastelar central y que presenta bandas de Caspary formadas por suberina. West & Takeda (1915) son los únicos que mencionan, para *I. japonica*, células con paredes ligeramente cutinizadas bordeando las cámaras aeríferas, sin hacer ninguna interpretación de este fenómeno.

Como resultado de un estudio más amplio sobre caracteres diagnósticos en el género, se pudo comprobar la presencia y variación de la endodermis en los microfílos de 18 taxones de *Isoetes*. Se incluyeron en el análisis especies europeas, norteafricanas y americanas, acuáticas, anfibias y terrestres, seleccionadas sobre la base de sus diversos hábitats o ciertas situaciones extremas, como la altitud sobre el nivel del mar y las bajas temperaturas durante la mayor parte del año, además de las condiciones naturales de exposición o estrés hídrico. Las especies seleccionadas son las siguientes: *I. adspersa* A. Br., *I. andina* Spruce ex Hook., *I. boliviensis* Weber, *I. boryana* Durieu, *I. brochonii* Motelay, *I. durieui* Bory, *I. echinospora* Durieu, *I. engelmannii* A. Br., *I. hystrix* Bory, *I. lacustris* L., *I. lechleri* Mett., *I. longissima* Bory, *I. malinverniana* Cesati & De Not., *I. melanopoda* Gay & Durieu, *I. setacea* Lam., *I. storkii* T. C. Palmer, *I. velata* A. Br. subsp. *velata*, *I. velata* subsp. *asturicense* (Lainz) Rivas Martínez & Prada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó material fresco y de herbario,

éste de las colecciones efectuadas por una de las autoras (C. Prada) y de los herbarios BC, COI, JACA, MA, MACB, MAF y SEV (Holmgren *et al.*, 1990). Se estudiaron numerosas colecciones pero se citan solamente las más representativas, seleccionadas por las autoras (Apéndice). Material adicional, ibérico y extraibérico, también estudiado, se puede consultar en Prada & Rolleri (2003). Se analizaron 5 microfílos por cada individuo y se estudiaron todos los individuos de cada colección.

Las observaciones se realizaron con microscopio óptico, de fluorescencia y electrónico de barrido. El material de herbario se utilizó directamente, o se restauró mediante la técnica propuesta por Prada & Rolleri (2003). Este proceso no afecta los resultados de las coloraciones ni la fluorescencia intrínseca.

Los cortes transversales de material fresco y restaurado se realizaron a mano alzada en el ápice, parte media y base de los microfílos; se observaron montados en glicerina y agua, 1:1 y coloreados con azul de toluidina (en adelante TBO; Gurr, 1966; Venning, 1954; D'Ambrogio de Argüeso, 1986).

La naturaleza de las sustancias en las paredes de las células endodérmicas se pone en evidencia con TBO, un colorante metacromático, catiónico, transitorio, que colorea los tejidos con carga negativa. Se utiliza en solución acuosa, al 0,1 o al 1 %, y es conveniente un breve lavado con agua acidificada con unas gotas de ácido acético para obtener una diferenciación más rápida. La mayoría de las paredes primarias como las del parénquima o las epidérmicas se colorean de rosa a púrpura claro, por sus contenidos en poliuriónidos, mientras que los polisacáridos hidroxilados, como la celulosa primaria y el almidón, no se colorean. En las paredes secundarias lignificadas (elementos del xilema, fibras del floema, etc.) o las

paredes primarias impregnadas con fenoles o taninos, predomina la reacción del colorante con los polifenoles. En los engrosamientos de las endodermis observadas hay polifenoles y grasas insaturadas del tipo de la suberina y la lignina, generalmente con predominio de la segunda. El TBO los destaca con reacción de color azul, azul-verdoso o azul brillante. En todos los casos, esta reacción indica paredes secundarias lignificadas. Aunque no es un colorante específico para lignina, la safranina también tiñe las paredes engrosadas de las células endodérmicas, en este caso de color rojo.

La autofluorescencia o fluorescencia intrínseca se utilizó adicionalmente para reforzar el procedimiento de detección de estas endodermis por métodos microquímicos. La fluorescencia intrínseca se atribuye principalmente a la presencia de metabolitos secundarios y puede resultar útil en la determinación de ciertas sustancias o estructuras (Ruzin, 1999: 174). Se observó en cortes transversales de microfilos, montados en agua, sin colorear, mediante un microscopio de fluorescencia Zeiss. La lignina emite autofluorescencia verdosa.

Para observaciones de la endodermis de las cámaras aeríferas se utilizó, además, microscopio electrónico de barrido. Pequeños fragmentos de microfilos tomados directamente de herbario se humedecieron y se abrieron longitudinalmente con unas pinzas de punta fina, se montaron en soportes metálicos mediante cinta adhesiva bifaz, se metalizaron con oro bajo vacío y se fotografiaron con un microscopio Jeol JSM-T330 A a 15 KV.

Los dibujos se realizaron con un microscopio Olympus CX 41 provisto de cámara clara. Las fotografías de cortes transversales foliares se tomaron en material incluido en parafina y coloreado con safranina - *fast green* (Johansen, 1968), con

un microscopio Nikon, equipado con cámara fotográfica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las endodermis foliares de *Isoetes* se presentan en regiones diferentes del microfilo y se encuentran también en distintas etapas de su desarrollo.

Endodermis de los canales intrastelares. En el área del haz vascular se forman, de manera esquizo-lisígena, por reabsorción de protoxilema, de uno a cuatro canales intrastelares, en torno de los cuales se encuentra una endodermis (fig. 1 A-D). Romeo *et al.* (2000) ilustraron en *I. durieui*, mediante fluorescencia inducida por colorantes, la endodermis presente en esta zona, que se encuentra en su etapa primaria y presenta bandas de Caspary. Aquí se observó solamente en un ejemplar de *I. velata* subsp. *velata*, coexistiendo con el tipo secundario, es decir, con engrosamientos «en U» (fig. 1E). Las bandas de Caspary están formadas por suberina (Romeo et al., 2000) o por suberina y lignina, ésta detectada aquí mediante el TBO.

En todas las especies estudiadas se encontraron endodermis secundarias con engrosamientos “en U”, más bien delgados, que rodean internamente todos los canales intrastelares (fig. 2 A-B). Tanto el TBO como la autofluorescencia indican que están impregnadas de lignina. Los engrosamientos no son completos: están presentes en las paredes tangenciales de las células, pero dejan parcialmente libres sus paredes radiales, de modo que estas células contactan entre sí por paredes que son parcialmente primarias y parcialmente secundarias (fig. 1 E, fig. 2 A-B).

Es posible que este tipo secundario de endodermis con las paredes más engrosadas y, por tanto, menos permeables, sea más

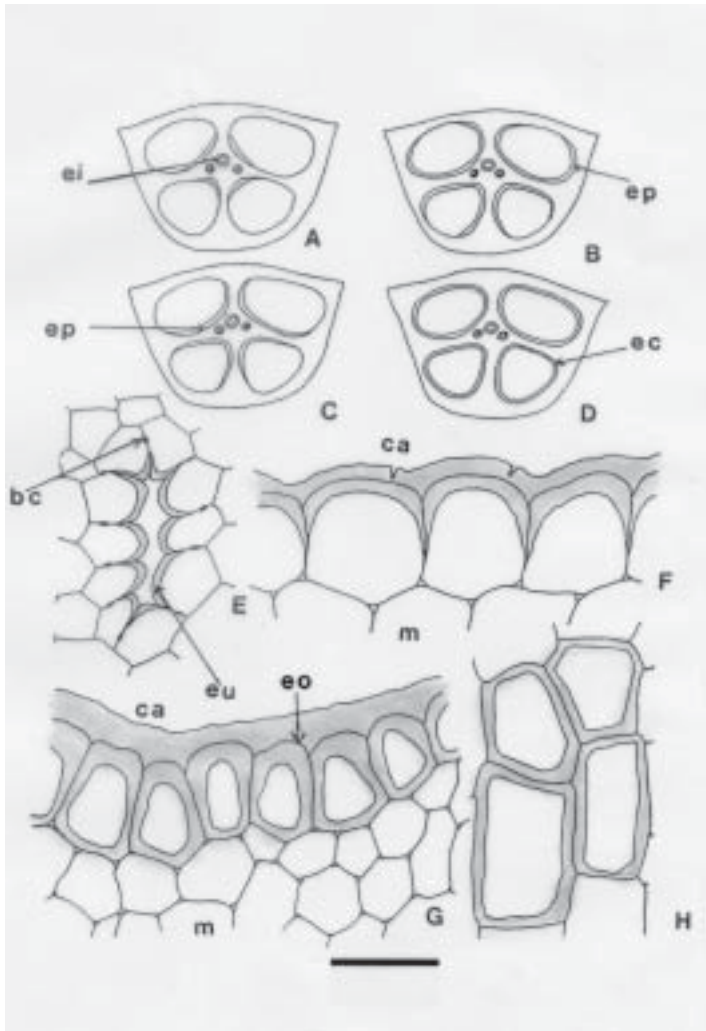


Figura 1. Endodermis foliares en *Isoetes*. **A-D**, Localización de la endodermis de las cámaras aeríferas y canales intrastelares en secciones transversales ideales de microfilos; **E**, *I. velata* subsp. *velata*, endodermis del canal intrastelar, con bandas de Caspariy y con engrosamientos «en U»; **F**, *I. setacea*, endodermis secundaria de las cámaras aeríferas, con engrosamientos «en U»; **G**, *I. andina*, endodermis terciaria, con engrosamientos «en O»; **H**, *I. andina*, células de la endodermis de las cámaras aeríferas, vistas en superficie. bc, bandas de Caspariy; ca, cámaras aeríferas; ec, endodermis completa; ei, endodermis de los canales intrastelares; eo, endodermis terciaria con engrosamientos en «O»; ep, endodermis parcial; eu, endodermis secundaria con engrosamientos en «U»; m, mesofilo. Barra, 100 μ m. *Foliar endodermis in Isoetes. A-D*, Ideal transverse sections of microphylls showing distribution of endodermis in air chambers and intrastelar canals; *E*, *I. velata* subsp. *velata*, endodermis with Casparian strips and endodermis with «U» thickenings in the intrastelar canal of the leaf; *F*, *I. setacea*, secondary endodermis of air chambers, with «U» thickenings; *G*, *I. andina*, tertiary endodermis with «O» thickenings; *H*, *I. andina*, endodermal cells of air chambers, as seen superficially. bc, Casparian strips; ca, air chambers; ec, complete endodermis; ei, intrastelar canals endodermis; eo, tertiary endodermis with «O» thickenings; ep, partial endodermis; eu, secondary endodermis with «U» thickenings; m, mesophyll. Bar, 100 μ m.

efectivo en la regulación del paso del agua que el primario y por ello constituya la etapa más frecuente en plantas adultas, ya que se ha encontrado en todas las especies analizadas y se desarrolla tempranamente: está presente en microfilos jóvenes y se forma antes de la maduración completa del haz central foliar. Esta endodermis se extiende por todo el haz vascular del microfilo y no desaparece en las porciones foliares que se encuentran hundidas en el sustrato.

Endodermis de las cámaras aeríferas.

Está situada en el límite entre la cámara aerífera y el mesofilo (fig. 1, A-D; fig. 3). Sus células se distinguen de las restantes del mesofilo, aún en cortes no coloreados, porque suelen ser más grandes, están claramente ordenadas, tienen las paredes de contacto radiales y tangenciales internas más bien delgadas y las tangenciales externas, es decir, las que están en contacto con las cámaras, convexas y prominentes, con engrosamientos parietales refringentes visibles claramente y sin técnicas especiales (fig. 2 C-F).

Esta capa puede ser parcial o completa (fig. 1 A-D). La endodermis parcial está restringida a la porción curva de la cámara que limita directamente con el área del haz vascular (fig. 1 A-C, fig. 2 A, C-F, fig. 3 A-F) o es más extensa. La endodermis completa circunvala totalmente la cámara (fig. 1 D, fig. 3 G).

Las células de esta endodermis están en etapas secundarias, con engrosamientos “en U” (fig. 1 F) o más raramente, terciarias, con engrosamientos “en O” (fig. 1 G), pero no hay células de paso, probablemente por el hecho de que en la mayoría de los casos esta endodermis rara vez forma un cilindro continuo. Los engrosamientos secundarios y terciarios de la endodermis tienen la misma reacción ante el TBO. Estas capas, además, emiten una fluorescencia verdosa, atribuible a lignina o al predominio de esta sustancia

sobre otras grasas similares, mientras que las capas cuticulares epidérmicas emiten una fluorescencia blanco-grisácea atribuible a cutina o al predominio de esta sustancia en las paredes celulares (Ruzin, 1999).

Casi todas las especies estudiadas, tanto acuáticas, como anfíbias y terrestres, presentan el tipo secundario y parcial de endodermis en las cámaras. Entre las acuáticas se presenta más engrosada en *I. longissima*, una especie que crece en aguas corrientes (fig. 2 D). Entre las anfíbias, es particularmente engrosada en *I. andina* (fig. 3 G) e *I. storkii* (fig. 3 D), que presentan endodermis de tipo terciario que parece, por el momento, característica de especies de altura. Desde el punto de vista morfológico, esta endodermis (fig. 1 G) es una evolución natural del tipo secundario. El engrosamiento de las paredes varía de una especie a otra, pero puede ser de una magnitud tal que, al efectuar cortes de los microfilos, se desprenden hacia las cámaras placas o trozos de pared externa (fig. 1, H, fig. 2 F-G, fig. 3 H) que dan respuestas positivas a las pruebas para lignina y autofluorescen como tal. Estas endodermis se pueden observar bien en la porción más expuesta de los microfilos, mientras que los engrosamientos disminuyen o eventualmente desaparecen en la porción foliar alada que se encuentra hundida en el sustrato.

La canalización del flujo de agua y su confinamiento a los tejidos conductores es particularmente importante en plantas acuáticas. En las terrestres, el agua absorbida se dirige naturalmente hacia los sitios en que se necesita, pero si las plantas pasan toda su vida o parte de ella como sumergidas, el agua absorbida que es bombeada por presión radicular hacia la estela podría pasar a la corteza en exceso. En el caso de plantas con cormos como el de *Isoetes*, con una corona de microfilos parcialmente sumergidos, la presión podría enviar esa agua en exceso

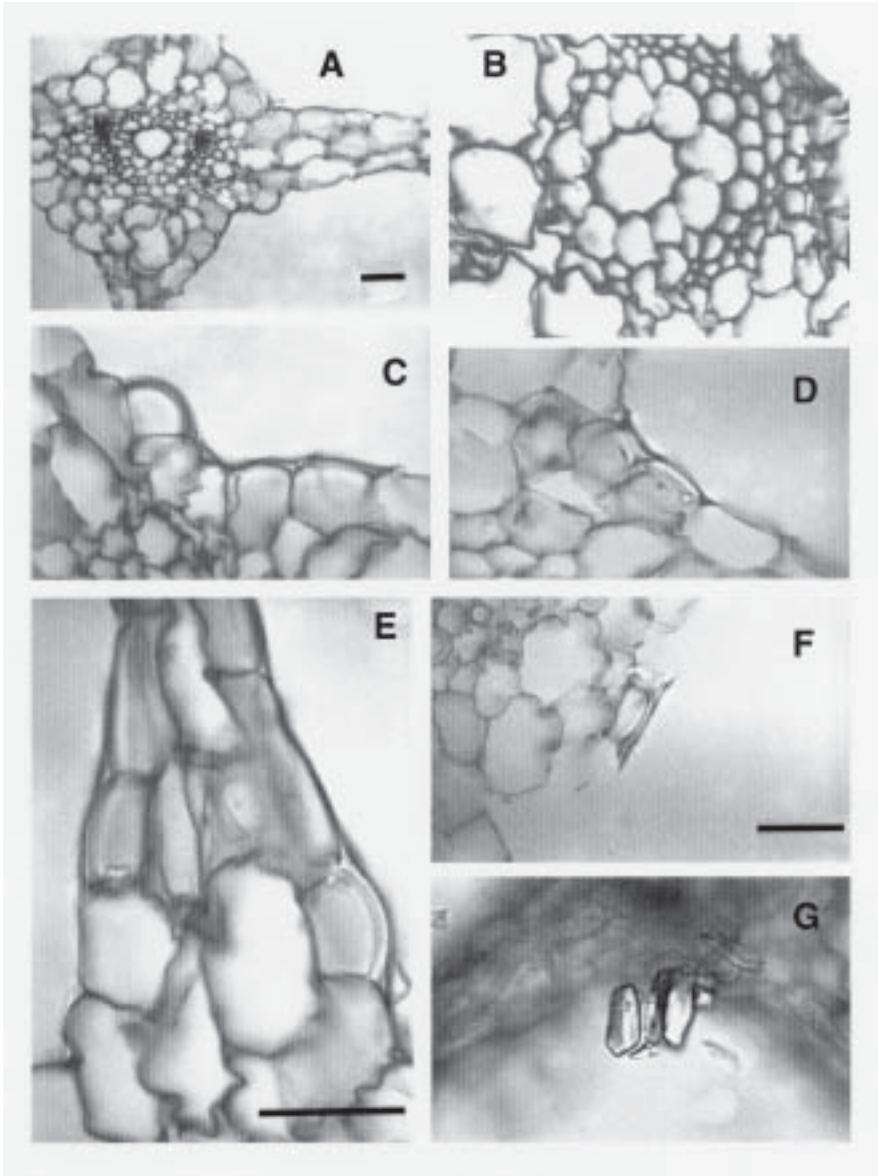


Figura 2. Endodermis foliares en *Isoetes*. **A, C, E**, *I. velata* subsp. *velata*, endodermis parcial de las cámaras aeríferas; **B, D**, *I. longissima*; **B**, endodermis del canal intrastelar; **D**, endodermis de las cámaras aeríferas; **F**, *I. setacea*, célula aislada de la endodermis parcial de las cámaras aeríferas; **G**, *I. storkii*, placas desprendidas de la pared de las células endodérmicas de las cámaras aeríferas. Todas las barras, 25 μm , barras en **B-D, G** como en **F**. *Foliar endodermis in Isoetes*. **A, C, E**, *I. velata* subsp. *velata*, *partial endodermis of air chamber*; **B, D**, *I. longissima*, **B**, *endodermis of intrastelar canal*; **D**, *endodermis of air chamber*; **F**, *I. setacea*, *isolated cell of the partial endodermis of air chamber*; **G**, *I. storkii*, *lignified pieces of cell walls from endodermis of air chambers*. All bars, 25 μm , bars in **B-D, G**, as in **F**.

hacia las cámaras aeríferas, una situación que debe evitarse ya que estas cámaras, en plantas arraigadas, no constituyen mecanismos de flotación sino sitios destinados a permitir que el flujo de oxígeno desde las áreas fotosintéticas más expuestas llegue hasta las zonas acloróticas sumergidas (Sculthorpe, 1971: 145; Mauseth, 1988: 258). La presencia de endodermis como capas reguladoras del flujo tiene así, una justificación fisiológica y anatómica en los microfilos de *Isoetes*. Las etapas de desarrollo son estados de diferenciación de las células endodérmicas más que diferentes tipos de endodermis, desarrolladas en relación con su función reguladora del flujo de agua. Coexisten en la misma endodermis (Esau, 1959; Metcalfe, 1979) y pueden manifestarse con distintas etapas en órganos diferentes de la misma planta: en *Lycopodium* se han observado raíces con endodermis “en U”, ejes postrados con endodermis “en O” y ejes erguidos con endodermis con bandas de Caspary (Rolleri, 1972).

El desarrollo de capas con funciones endodermoides es un recurso fisiológico relativamente simple y no es exclusivo de *Isoetes*: entre los pteridófitos, algunas especies de *Equisetum* desarrollan más de una endodermis en distintas áreas de los ejes y también en hojas (Iranzo, 1983), posiblemente como resultado de su vida anfibia y el estrés acuífero estacional, algo que afecta igualmente a la mayoría de las especies de *Isoetes*. Como rasgo relacionado con el control del flujo de agua e iones, es extremadamente frecuente en plantas acuáticas, sumergidas o emergentes (Sculthorpe, 1971).

CONCLUSIONES

Las endodermis presentes en distintas regiones de los microfilos de *Isoetes* se

describen por primera vez para un número representativo de especies de diversos hábitats. Se las detectó mediante pruebas microquímicas y fluorescencia intrínseca; se analizaron sus caracteres morfológicos, su eventual función en estas plantas y sus relaciones con el hábitat particular de las mismas. Las técnicas de procesamiento del material para su estudio no afectan la endodermis.

Las endodermis son de tres tipos: primarias con bandas de Caspary, secundarias o con engrosamientos “en U” y terciarias o con engrosamientos “en O”. Coexisten los tres en un mismo microfilo, aunque topográficamente se originan en zonas diferentes: en los canales intrastelares se forman endodermis primarias y secundarias, mientras que en el límite entre las cámaras aeríferas y el área del haz se forman endodermis secundarias o terciarias.

Las endodermis en etapa primaria no se detectan con facilidad, excepto mediante fluorescencia inducida (Romeo *et. al.*, 2000) o TBO, parecen infrecuentes y podrían ser sólo una etapa hacia las secundarias; están impregnadas de suberina. Las secundarias y terciarias estarían formadas por lignina o una mezcla de lignina y suberina en la que predomina la lignina, ya que las reacciones microquímicas y la fluorescencia intrínseca indican esa sustancia como principal componente de la pared.

Las endodermis de las cámaras se encuentran en todas las especies estudiadas, aunque en especies anfibias de gran altura esta endodermis puede estar muy especializada y encontrarse en su etapa terciaria. El desarrollo de las endodermis de las cámaras disminuye gradualmente hacia las bases foliares, mientras que eso no sucede así con las endodermis de los canales intrastelares, que se extienden desde el ápice hasta la base misma de los microfilos.

Si se considera la endodermis como una

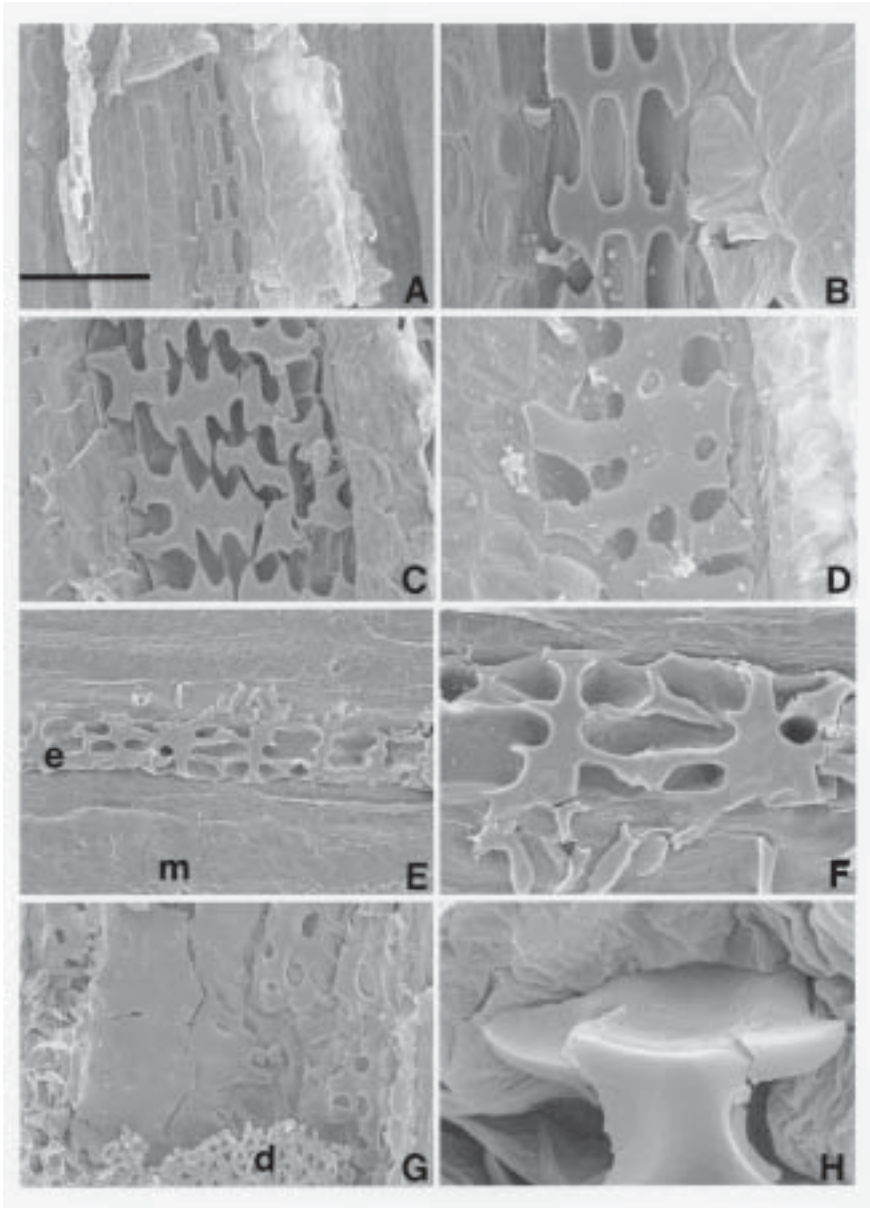


Figura 3. Pared externa de las células endodérmicas de las cámaras aeríferas en *Isoetes*. A-F, endodermis parcial; G, endodermis completa. A, *I. bronchonii*; B, *I. lacustris*; C, *I. setacea*; D, *I. storkii*; E, F, *I. malinverniana*; G, *I. andina*; H, *I. piedmontana*, detalle de la pared engrosada de una célula. d, diafragma foliar; e, endodermis; m, mesofilo. Barra: 300 μm en A, E y G; 100 μm en B, C, D y F; 8 μm en H. External walls of the endodermal cells of the air chambers in *Isoetes*. A-F, partial endodermis; G, complete endodermis. A, *I. bronchonii*; B, *I. lacustris*; C, *I. setacea*; D, *I. storkii*; E, F, *I. malinverniana*; G, *I. andina*; H, *I. piedmontana*, detail of the thickened wall of one endodermal cell. d, leaf diaphragm; e, endodermis; m, mesophyll. Bars: 300 μm in A, E and G; 100 μm in B, C, D and F; 8 μm in H.

capa cuya mayor efectividad radica en la regulación y control del movimiento del agua e iones desde y hacia los tejidos vasculares, su presencia en microfílos sujetos a estrés hídrico tiene una justificación clara, tanto morfológica como fisiológica. Es posible que las endodermis de las cámaras eviten además, la dispersión de metabolitos hacia éstas, lo que explicaría el mayor desarrollo de los espesamientos de las paredes de las células endodérmicas en esta área.

AGRADECIMIENTOS. Este trabajo se realizó con el apoyo del Ministerio de Educación, Cultura y Deportes de España (MECD), organismo que facilitó la participación de la Dra. Cristina H. Rolleri en un proyecto de investigación pteridológica realizado en la Facultad de Biología de la Universidad Complutense (Madrid), mediante el otorgamiento de una Ayuda para Profesores Extranjeros en Régimen de Año Sabático (Referencia: SAB2002-0005).

APÉNDICE

Material examinado representativo

Isoetes adspersa A. Br. ARGELIA: Orán, Mare du Djebel Santo, *Debeaul s/n.* (MA); Orán, Rou Sfer, *Doumergue s/n.* (MA). ***Isoetes andina*** Spruce ex Hook. f. COLOMBIA: Cundinamarca: cerca de la Laguna de Chisacá, *Acosta-Arteaga 250* (MA); Macizo de Sumapaz, *Cuatrecasas 27038* (MA). ***Isoetes boliviensis*** Weber. BOLIVIA: La Paz: Omasuyos, pr. Achacachi, *Fernández Casas 6619* (MA); entre Escoma y Hualcapayo, *Ceballos et al. Bo-672* (MA). ***Isoetes boryana*** Durieu. FRANCIA: Gironde: Etang de Cazaux, *Giraudias s/n.* (MA); Gironde: *Casares Gil s/n.* (MA). ***Isoetes bronchonii*** Motelay . FRANCIA: Les Bouillouses, Lac du Vive, *Prada s/n.* (MACB); Ariège, vallée d'Orlu, près Aix-les-Thermes, lac de Naguilles, *Neyraut et al. s/n.* (MA). ***Isoetes durieui***

Bory.- ESPAÑA: Cádiz: Ubrique, Collado del Cuervo, *Silvestre 65* (SEV); entre Tarifa y Algeciras, *Luque et al. 2176/78* (SEV). ***Isoetes echinospora*** Durieu. ANDORRA: Estanys de Pessons, *Prada s/n.* ESPAÑA: Soria: Laguna Larga de Urbión, *Montserrat s/n.* (JACA). FRANCIA: Les Bouillouses, Lac du Vive, *Prada s/n.* (MACB). ***Isoetes engelmannii*** A. Br. ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA: Massachusetts: Hampshire Co.: Haaydenville, Nothampton Reservoir, *Ahles 77676* (MA). ***Isoetes histrix*** Bory. ESPAÑA: Cádiz: entre Tarifa y Algeciras, *Luque et al. 2176/78* (SEV). PORTUGAL: Algarve: alrededores de Faro, Pinhal do Ludo, *Sobrinho & Mendes* (COI). FRANCIA: Finisterre: Bigoudeu, *Citoleux s/n.* ***Isoetes lacustris*** L. ANDORRA: Estany Furcat, *Losa & Montserrat s/n.* (MA). BULGARIA: Montes Pirin, Lago Muratovo, *Burgaz et al. s/n.* (MACB). ESPAÑA: Lérida: Estanys d'Unarre (Pallars Sobirà), CH52, *Masalles & Minot s/n.* (MA). FRANCIA: Les Bouillouses, Lac Long, *Prada s/n.* ESTADOS UNIDOS DE AMERICA: Wisconsin: Oneida Co., Pelican Lake, *Prada & Taylor s/n.* (MACB). ***I. lechleri*** Weber. BOLIVIA: La Paz, Omasuyos, entre Achacachi y Sorata, cerca de Humanata, *Ceballos et al. BO-580* (MA). ***Isoetes longissima*** Bory. ESPAÑA: La Coruña: Teijeiro, Río Mandeo, *Prada s/n.* Lugo, Vilalva, Codesido, Río San Martiño, *Soñora s/n* (MA). ***Isoetes malinverniana*** Cesati & De Not. ITALIA: *prope Isarno et Vignale, Ferrari s/n* (MA); Oldenico, Vercelli, *Raynal 20885* (MA). ***Isoetes melanopoda*** Gay & Durieu. ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA: Georgia, Butts Co. pr. Jackson, *Prada & Luebke s/n.* ***Isoetes setacea*** Lam.-ESPAÑA: Huelva: Laguna de la Dehesilla, *Fuertes s/n.* ***Isoetes storkii*** T. C. Palmer.- COSTA RICA: San José: Dota Copey, Cerro Vueltas, *Castroviejo & Sánchez s/n.* (MA). ***Isoetes velata*** A. Br. subsp. ***velata.-***

ESPAÑA: Madrid: Gargantilla del Lozoya, *Prada s/n*. MARRUECOS: Bab Taza, *Font Quer s/n*. (MA). ARGELIA: pr. Alger, Marais de la Rassanta, *Malato Beliz s/n*. (MA). CÓRCEGA: Suartone, Tre Padule, *Lambinon et al. s/n* (MA). *Isoetes velata* A. Br. subsp. *asturicense* (Lainz) Rivas-Martínez & Prada. ESPAÑA: Asturias: Leitariegos, laguna de Arvás, *Prada s/n*.

BIBLIOGRAFÍA

- D'AMBROGIO DE ARGÜESO, A. -1986- *Manual de técnicas en histología vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- EAMES, A. J. & L. H. MACDANIELS -1947- *An introduction to plant anatomy*. McGraw-Hill Book Co., New York & London.
- ESAU, K. -1959- *Anatomía Vegetal*. Ediciones Omega, Barcelona.
- FREY-WYSSLING, A. -1959- *Die Pflanzliche Zellwand*. Springer-Verlag, Berlín.
- GURR, L. -1966- *The rational use of dyes in biology*. Williamson and Wilkers, Baltimore (también publicado por Arrowsmith, Bristol, England and Leonard Hill, London, 1965).
- HALL, J. B. -1971- Observations on Isoetes in Ghana. *Bot. J. Linn. Soc.* 64: 117-139.
- HOLMGREN, P. K, N. H. HOLMGREN & L. C. BARNETT -1990- *Index Herbariorum. Part I: The Herbaria of the World (Regnum Veg. Vol. 120)*. New York Botanical Garden, New York.
- IRANZO, J. -1983- *Aproximación al estudio anátomo-morfológico e histológico de las especies del género Equisetum en la Península Ibérica*. Tesis Doctoral inéd., Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Botánica, Universidad de Valencia.
- JOHANSEN, D. A. -1968-. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company. New York & London.
- MAUSETH, J. D. -1988- *Plant anatomy*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park, California.
- METCALFE, C. -1979- The stem, en: METCALFE, C. & CHALK, *The anatomy of the Dicotyledons*, Clarendon Press, Oxford.
- PRADA, C. & C. H. ROLLERI, -2003- Caracteres diagnósticos foliares en táxones ibéricos de *Isoetes* L. (Isoetaceae, Pteridophyta). *Anales Jard. Bot. Madrid* 60 (2): 371-386.
- ROLLERI, C. H. -1972-. Sobre la presencia y naturaleza de la endodermis en especies de *Lycopodium* s. str. *Rev. Museo La Plata, n.s., Bot.* 14(2): 365 – 369.
- ROMEO, D., A. TROIA, C. BURGARELLA & E. BELLINI -2000-. Casparian strips in the leaf intrastelar canals of *Isoetes durieui* Bory, a Mediterranean terrestrial species. *Ann. Bot.* 86: 1051-1054
- RUZIN, S. E. -1999- *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press. London.
- SADEBECK, R. -1902- Isoetaceae. In: Engler A. & K. Prantl. *Die Natürlichen Pflanzenfamilien* 1(4): 756-779.
- SCOTT, D. H. & T. G. HILL -1900-. The structure of *Isoetes histrix*. *Ann. Bot.* 14: 413-454.
- SCULTHORPE, C. D. -1971- *The biology of aquatic vascular plants*. Edward Arnold, London.
- VENNING, F. D. -1954- *Manual of advanced plant microtechnique*. Wm. C. Brown, Dubuque, Iowa.
- VON DENFFER, D. -1986- Histología, Capítulo III, pags.107-222 en: Strasburger, E., F. Noll, H. Schenk & A. F. Schimper, *Tratado de Botánica*, 7ma. Ed. Española, Ed. Marin, Barcelona.
- WEST, C. & H. TAKEDA -1915- X. On *Isoetes japonica* A. Br. *Trans. Linn. Soc. Ser. 2 Bot.* 8: 333-376.

Aceptado para su publicación en julio de 2004

Dirección de los autores. C. H. Rolleri: Laboratorio de Estudios de Anatomía Vegetal Evolutiva y Sistemática (LEAVES), Facultad de Ciencias Naturales y Museo, 64 entre Victoria y diagonal 113, Bi904 DZB, La Plata, Argentina. tinari@uolsinectis.com.ar; C. Prada: Facultad de Biología, Departamento de Biología Vegetal I, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España. cpm@bio.ucm.es