

Anatomía y endomicorriza en *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia* (Pteridaceae) en Tucumán (Argentina)

Albornoz, P.¹⁻² y M. Hernández¹

¹ Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) Tucumán.

² Cátedra Anatomía Vegetal, Facultad Ciencias Naturales e IML. Miguel Lillo 205, (4000) Tucumán. albornoz@csnat.unt.edu.ar, mteran@csnat.unt.edu.ar

RESUMEN — Albornoz, P. y M. Hernández, 2006. "Anatomía y endomicorriza en *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia* (Pteridaceae) en Tucumán (Argentina)". *Lilloa* 43 (1-2). El presente trabajo describe la anatomía foliar, del rizoma y de la raíz. Se evalúa la colonización endomicorrízica. Se trabajó con material fresco y fijado en FAA. Se realizaron cortes transversales, disociados y diafanizados mediante técnicas convencionales. La morfología no evidencia diferencias con respecto a la descripción original del taxón. La anatomía de esta subespecie muestra su adaptación a ambientes xéricos, tales como lámina ericoide, fibras y macroescleridas en todos los órganos. Se cita por primera vez para la Argentina y para Tucumán la presencia de endomicorizas en esta subespecie. Las esporas rizosféricas encontradas son: *Acaulospora scrobiculata* Trappe, *A. gerdemanni* Schenk y Nicolson, *A. birreticulata* Rothwell y Trappe, *Glomus* sp₁, *Glomus* sp₂ y *Gigaspora* sp.

PALABRAS CLAVE: *Pellaea ternifolia*, morfología, anatomía, hoja, rizoma, raíz, endomicorriza.

ABSTRACT — Albornoz, P. y M. Hernández, 2006. "Anatomy and endomycorrhiza in *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia* (Pteridaceae) in Tucumán (Argentina)". *Lilloa* 43 (1-2). This paper describes the anatomy of leaves, rhizomes and roots. It is valued the endomycorrhiza colonization. Fresh material was fixed in FAA. Conventional histological techniques were used. The anatomy of this subspecies evidences its adaptation to xeric environments. It is characterized by ericoide leaves, fibers and macroescleroids in all of the studied organs. The presence the endomycorrhiza in this subspecies is cited for the first time for Argentina and Tucumán. The rhizospheric spores are found: *Acaulospora scrobiculata* Trappe, *A. gerdemanni* Schenk and Nicolson, *A. birreticulata* Rothwell and Trappe, *Glomus* sp₁, *Glomus* sp₂ y *Gigaspora* sp.

PALABRAS CLAVE: *Pellaea ternifolia*, morphology, anatomy, leaf, rhizome, root, endomycorrhiza.

INTRODUCCIÓN

Pellaea es un género subcosmopolita de aproximadamente 35 especies (Mickel y Smith, 2004; Windham, 1993) de zonas templadas y subtropicales, de ambientes secos, xéricos y montanos (Tryon y Tryon, 1982). Se distribuye en el continente americano, Asia, África, Islas del Pacífico y Australia (Windham, 1993). Su centro de diversidad es el SO de EE.UU., México y África (Moran, 2003).

En Argentina *Pellaea* esta representado por tres especies: *P. ovata* (Desv.) Weath. *P. sagittata* (Cav.) Link y *P. ternifolia* (Cav.) Link (Ponce, 1996). *Pellaea ternifolia* se distribuye desde Estados Unidos de Norteamérica hasta Argentina y Chile. En Argentina se encuentra la subespecie tipo y se distribuye por el arco andino pampeano hasta Sierra de la Ventana en Buenos Aires, donde crece en grietas rocosas

o barrancos entre los 1.200 a 4.300 m snm (Sota, 1977; Sota *et al.* 2001).

Este helecho xeromórfico se caracteriza por la predominancia de pinnas coriáceas ternadas, glabras con pecíolos negros lustrosos (Sota *et al.* 2001). Tanto las esporas como los gametofitos muestran gran tolerancia hacia la desecación (Tryon, 1957).

Antecedentes morfológicos para el género son los referidos a la estela soleno dictiostélica en rizoma (Tryon, 1957; Sota, 1977). Para la subespecie son los referido a al esclerosamiento de la porción media de las escamas (Tryon, 1957; Sota *et al.* 2001).

Cooper (1975), Berch y Kendrick (1982) y Turnau *et al.* (2005) mencionan la presencia de endomicorizas en *P. rotundifolia*, *P. falcata*, *P. glabella* y *P. viridis*. No se registran antecedentes anatómicos

ni endomicorrícicos en *P. ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia*.

El objetivo del presente trabajo fue analizar la anatomía de *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia* y evaluar las endomicorrizas nativas asociadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se ubicó en las localidades de El Rincón, El Roquedal (Km 93, Ruta provincial 307) y Carapunco en los Valles Calchaquies, Tucumán, tal como se puede observar en la lista del material que documenta este estudio.

Anatomía.— Se trabajó con material fresco y herborizado del Herbario LIL. Una parte del material fresco se fijó en FAA (1:1:8 v/v/v formaldeído: ácido acético glacial: alcohol etílico 80%) y el resto se incorporó al Herbario LIL. De cada individuo se seleccionaron 3 pínulas terminales del sector medio de la fronde. Para la anatomía foliar se realizaron diafanizados (Dizeo de Strittmater, 1986), cortes a mano alzada y con micrótopo rotativo Minot a 12 μm de espesor en el caso de material incluido en parafina (Johansen, 1940). Se realizaron disociados de raíz, pecíolo y escamas utilizando el Método de Schultze (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Las coloraciones empleadas fueron safranina, safranina-fast green y violeta de crecilo (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). En la determinación del tipo de estoma se utilizó la clasificación de Van Cotthem (1970).

Micorrizas.— Para el tratamiento de las raíces se utilizó la técnica de Phillips y Hayman (1970); y dichas raíces se mantuvieron durante 90 días en KOH 10%. El suelo rizosférico se procesó siguiendo la técnica de Gerdemann y Nicolson (1963). Para la determinación de las esporas se utilizó Schenck y Pérez (1990) y Morton y Benny (1990). El índice estomático fue calculado como el cociente entre el número de estomas por campo microscópico y el número de células epidérmicas y estomas (Salisbury, 1927) para un $n = 9$.

En la estimación de la colonización endomicorrícica se utilizó la técnica del microscopio compuesto (McGonigle *et al.*, 1990). Se examinaron 150 intersecciones para cada individuo, con aumento de microscopio óptico $\times 200$, para un $n = 18$. Se obtuvieron los siguientes porcentajes: longitud de raíz colonizada por hifas, vesículas y arbusculos; se calcularon los valores mínimos y máximos de colonización.

En todos los casos se estimó la media (\bar{x}) y la desviación standard (S) y en algunos casos valores mínimos y máximos.

Las observaciones y fotografías fueron realizadas en microscopio Zeiss Axiostar Plus con cámara fotográfica digital Canon Power Shot de 7,1 MP.

MATERIAL ESTUDIADO

Tucumán.— Dpto. Tafí del Valle, Carapunco, Km 86, Ruta Provincial 307, 3.000 m snm, 19-IV-05, Hernández, Albornoz y Muruaga 62, 63, 64, 70, 73, 74 (LIL). 4-V-05, Hernández y Albornoz 154, 155 (LIL). El Infiernillo, Ruta Prov. 307, Km 80, 3.000 m snm, 9-10-XII-05, Hernández, Terán, Bedascarrasbure y Altamirano 238, 239. Km. 93, Ruta Prov. 307, 9-10-XII-05, Hernández, Terán, Bedascarrasbure y Altamirano 240, 245 (LIL). Tafí del Valle, El Rincón, 2.000 m snm, 9-XII-05, Hernández, Terán, Bedascarrasbure y Altamirano 207, 219, 220, 260 (LIL).

RESULTADOS

Morfología.— Rizomas compactos, rastreos decumbentes, cubierto de escamas subuladas con el margen denticulado a eroso castaño amarillentas con la porción longitudinal central oscura, en diferentes grados de esclerosamiento. Las escamas se disponen concentrica y apretadamente alrededor de la base de los pecíolos otorgándole un aspecto bulboso. Pecíolos oscuros, lustrosos, aplanados adaxialmente, glabros. Láminas de 10 a 40 cm de largo, subdimorfitas, bipinnadas. Pinnas de 6 a 15, opuestas o alternas en el ápice generalmente ternadas a bifolioladas en la base. Pinnulas rígidas, coriáceas, glabras, sésiles a poco subpediceladas, lineares a

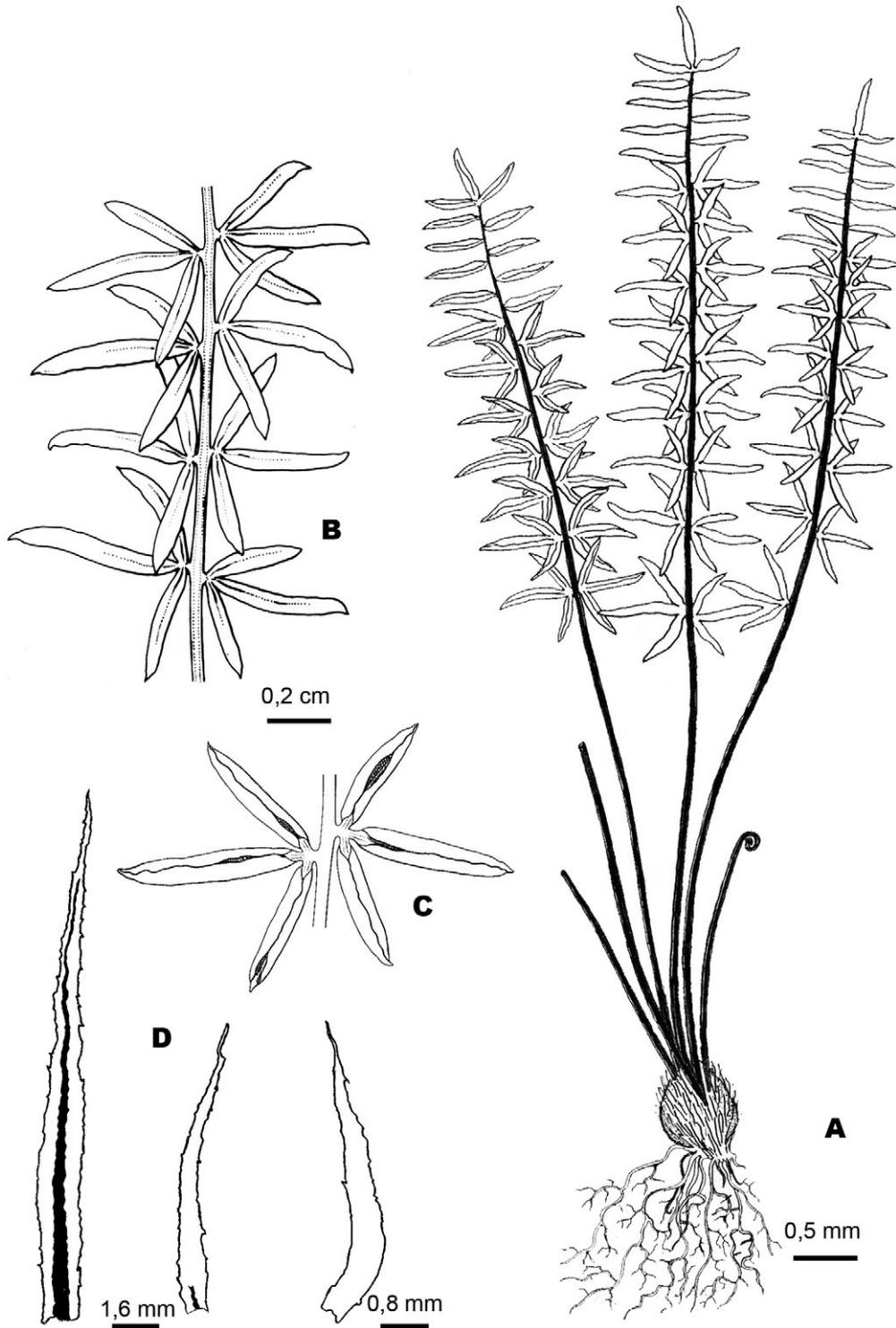


Fig. 1. *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia*. **A.** Aspecto general de la planta; **B.** Detalle de pínulas estériles; **C.** Detalle de pínulas fértiles; **D.** Escamas del rizoma y de la base del peciolo en diferentes estadios de maduración. A-E Hernández *et al.* 64.

elípticas, de 0,8 a 1,6 cm. Margen fuertemente reflexo (Fig. 1).

Anatomía foliar.— En vista superficial las células epidérmicas de ambas superficies son rectangular-lobuladas, con pared sinuosa gruesa, cutícula lisa y láminas glabras (Fig. 2A-D). Los estomas se hallan en la epidermis abaxial y son de tipo polocítico, actinocítico e hipocítico. Los estomas polocíticos representan el 55,28% de los estomas en las plantas estudiadas. El 35,42% de los estomas son actinocíticos y el 9,03% son hipocíticos (Fig. 2C, D). Se observaron que el 0,01 % de los estomas son contiguos.

El largo de los estomas varía entre 32 μm y 66 μm , siendo la media 51,85 μm con una desviación de 5,54. Los valores mínimos y máximos del ancho de estomas es 26 μm x 55 μm , con una media de 42,12 μm y una desviación de 4,85. El índice estomático es 27,01 con una desviación de 4,69.

El margen es marcadamente reflexo, continuo y modificado en la porción terminal; con células rectangulares, lobuladas con paredes sinuosas, gruesas y borde marcadamente lobulado (Fig. 2E).

En corte transversal la lámina tiene forma ericoide, dorsiventral, hipostomática. La epidermis es uniestratificada y presenta macroesclereidas a la altura del nervio medio. Presencia de un tejido subepidérmico de 1-2 capas de macroesclereidas hacia ambas superficies, restringiéndose en la abaxial a un casquete a la altura del nervio medio, en tanto que en la epidermis adaxial cubre hasta la mitad de la lámina (Fig. 2B, F- H). Los estomas se hallan al mismo nivel que las células epidérmicas. El parénquima en empalizada presenta de 3-4 capas de células y el esponjoso de 3-5. El nervio principal y los secundarios son protostélicos, periciclo uniestratificado, endodermis con banda de Caspary con engrosamientos en las paredes radiales. En corte transversal el margen reflexo esta formado por la prolongación de ambas epidermis (Fig. 3A).

El pecíolo en sección transversal presenta la superficie adaxial plana y la

abaxial circular con epidermis uniestratificada con cutícula gruesa y lisa (Fig. 3B). El tejido cortical y la epidermis se hallan formados por fibras y macroesclereidas (Fig. 3C). El cilindro vascular es una protostela con xilema en forma de V abierta, endodermis con bandas de Caspary con engrosamientos en forma de U y periciclo de 2-3 capas de células (Fig. 3D).

Anatomía de rizoma.— El rizoma con epidermis uniestratificada y subepidermis formada por 3-7 capas de fibras y macroesclereidas. La estela es solenodictios-télica en las que los intersticios foliares se solapan (Fig. 3E).

Las escamas juveniles son uniestratificadas, delgadas con los márgenes denticulados a erosos. Las adultas son pluriestratificadas, ensanchadas y presentan parte de la porción media longitudinal esclerosada, formada por macroesclereidas; pudiendo encontrarse estadios intermedios (Fig. 3F-H).

Anatomía de raíz.— La raíz en sección transversal presenta epidermis uniestratificada, el tejido cortical esta totalmente formado por 6-9 capas de macroescleridas (Fig. 4A-B). La endodermis con bandas de Caspary con engrosamientos en U. El periciclo es biestratificado y la estela es de tipo diarca (Fig. 4C).

Endomicorriza.— El sistema radicular estudiado presenta endomicorrizas. El porcentaje promedio de longitud de raíz colonizada: Hifal 16,95%; Vesicular 2,36% y Arbuscular 2,65%. Los valores mínimos y máximos de la colonización son 7,25% a 15,66% respectivamente. Las hifas ramificadas moniliodes se hallan presentes en un porcentaje promedio de 3% (Fig. 4E-G). Se observaron vesículas equinuladas adheridas a las raíces (Fig. 5A).

Las esporas encontradas en el suelo rizosférico son: *Acaulospora scrobiculata* Trappe (Fig. 5 B) *A. gerdemannii* Schenk y Nicolson (Fig. 5C), *A. birreticulata* Rothwell y Trappe (Fig. 5D), *Gigaspora* sp. (Fig. 5E), *Glomus* sp₁ (Fig. 5F) y *Glomus* sp₂ (Fig. 5G).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La forma ericoide de la lámina, la presencia de macroesclereidas en epidermis y subepidermis de lámina, sumado a fibras y macroescleriedas en pecíolo y raíz, son caracteres anatómicos que reflejan la adaptación de esta subespecie a ambientes xéricos; por lo que coincidimos con la caracterización realizada por Sota *et al.* (2001) como un helecho xeromórfico.

Se encontraron tres tipos de escamas con un engrosamiento medio longitudinal que varía de acuerdo a la edad de las mismas; datos similares fueron reportados por Tryon (1957).

Se cita para el género la presencia de una soleno-dictiostela en rizoma (De la Sota, 1977); este carácter fue también observado en la subespecie estudiada.

Se cita por primera vez en el país y para Tucumán la presencia de endomicorrizas en el sistema radicular de *P. ternifolia*. Se incluyen hifas ramificadas monilioides. Las esporas nativas encontradas en el suelo rizosférico pertenecen a *Glomus* Tulasne y Tulasne, *Gigaspora* Gerdemann y Trappe emend. Walter y Sanders y *Acaulospora* Gerdemann y Trappe emend. Berch.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. De la Sota por la lectura crítica del manuscrito. A la pasante Flavia Rodríguez por su colaboración en tareas de campo y de laboratorio, a la técnica Lic. Ana Ruiz y la pasante Soledad Serrano del Instituto de Morfología Vegetal, Área Botánica, Fundación Miguel Lillo por la realización de algunas mediciones y parte de los preparados, respectivamente, a los estudiantes Bedascarrasbure, Terán y Altamirano por su ayuda en la colección y procesado del material de estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Boullard, B. 1979. Considerations sur la Simbiose fongique chez les Pteridophytes. *Sylogus* 19.
- Cooper, K. M. 1976. A field survey of mycorrhizas in New Zealand ferns. *New Zealand J. Bot.* 14: 169-181.
- Dizeo de Strittmatter, C. 1986. Técnica de Dizeo de Strittmatter. En: D'Ambrogio de Argüeso (ed.). Manual de técnicas en Histología Vegetal. pp. 52. Hemisferio Sur. Bs. As.
- Gerdemann, J. W. & T. H. Nicolson. 1963. Spores of a mycorrhizal *Endogone* species extracted from the soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Myc. Soc.* 46: 235-244.
- Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique: Mc Graw Hill, N.Y. London.
- Mickel, J. T. & A. Smith, 2004. The Pteridophytes of Mexico. *Mem. New York Bot. Gard.* Volume 88.
- McGonigle, T. P.; M. H. Miller; D. G. Evans; G. L. Fairchild & J. A. Swan. 1990. A method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.
- Moran, R. C. 2003. Los géneros de helechos y licofitas neotropicales. Una guía para estudiantes. Jardín Botánico de Nueva York.
- Morton, J. B. & G. L. Benny. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two suborders, Glomineae and Gigasporaceae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 47-491
- Phillips & D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing root and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Myc. Soc.* 55: 158-161.
- Ponce, M. M. 1996. Pteridaceae. En: Zuloaga, F. O. & O. Morrone (eds.), Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina 1, *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 60: 44-56.
- Salisbury, E. J. 1927. On the causes and Ecological Significance of Stomatal Frequency with Special Reference to The Woodland Flora. *Rg. Soc. London* 216 (II): 1-65.
- Shenk, N. C & Y. Pérez, 1990. Manual for the Identification of V.A. Mycorrhizal Fungi. Plant Pathology Department. Institute of Food and Agricultural Science. University of Florida.
- Sota de la, E. R. 1977. Pteridophyta. En A. Cabrera (ed.). Flora de la Provincia de Jujuy. R.A. Col. Cientif. INTA, Bs As. Tomo 13 (2): 2-275.
- Sota de la, E. R.; M. Ponce; O. G. Martínez; G. E. Giudice & G. I. Michelena. 2001. Pteridaceae Rchb. Flora del Valle de Lerma. *Aportes Botánicos de Salta. Ser. Flora* Vol 6 (9): 1-48.
- Tryon, A. F. 1957. A revision of the fern genus *Pellaea* section *Pellaea*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 44 (2): 125- 193.
- Tryon, R. M. & A. F. Tryon. 1982. Ferns and Allied Plants with Special Reference to Tropical America. Springer-Verlag. New York.
- Turnau, K.; T. Anielska y A. Jurkiewicz. 2005. Mycotallic/mycorrhizal symbiosis of chlorophyllous gametophytes and sporophytes of a fern, *Pellaea viridis*(Forsk.) Prantl (Pellaeaceae, Pteridales). *Mycorrhiza* 15 (2): 121-128.
- Van Cotthem, W. R. J. 1970. A classification of stomatal types. *Bot. J. Linn. Soc.*, 63: 235-246.
- Windham, M. D. 1993. *Pellaea*. In: Flora of North America North of Mexico, vol. 2, 175-186. Oxford University Press, New York, USA.

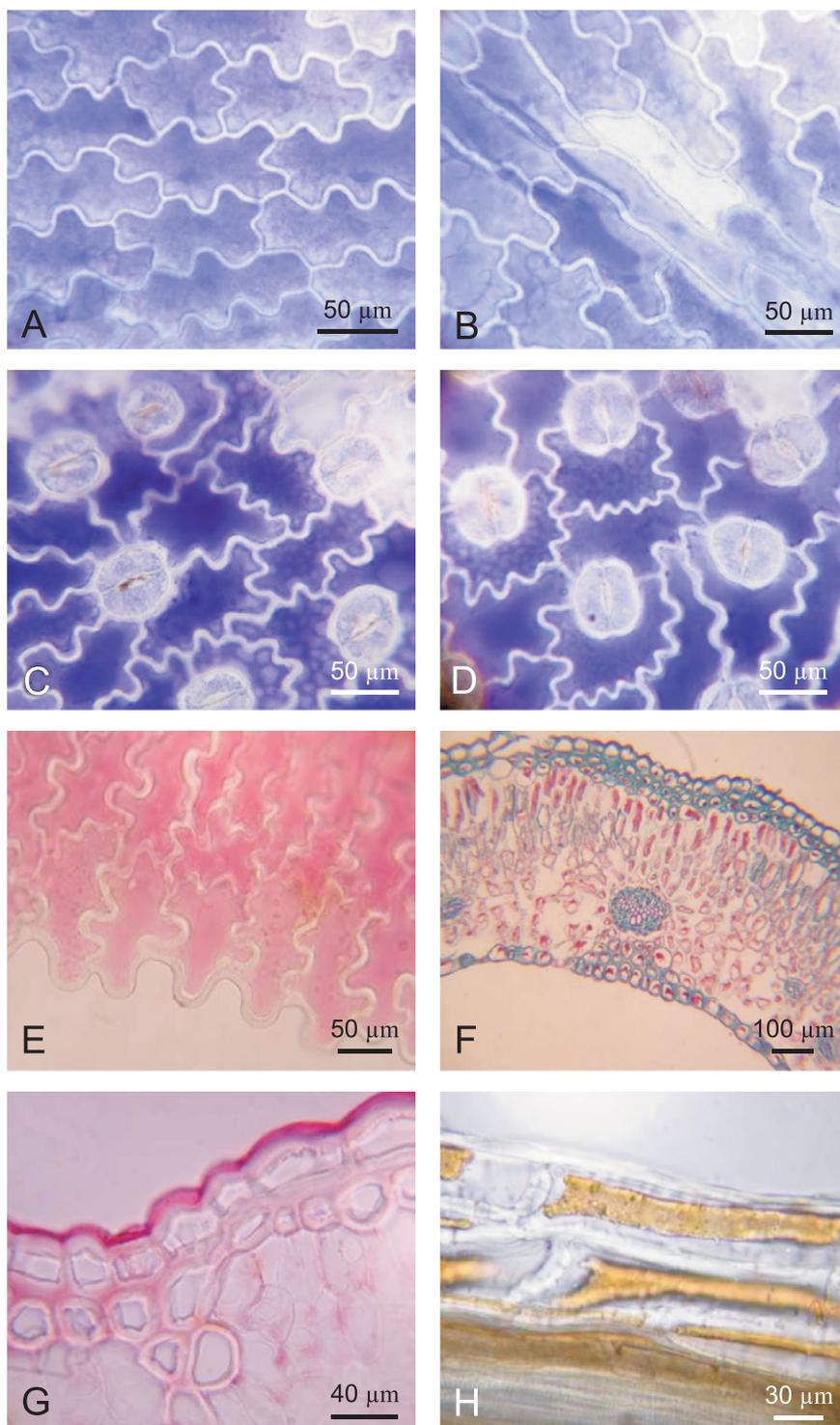


Fig. 2. *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia*. **A.** Epidermis adaxial; **B.** Macroclereidas en epidermis adaxial; **C.** Epidermis abaxial con estomas actinocíticos **D.** Epidermis abaxial con estomas hipocíticos y polocíticos; **E.** Margen reflexo; **F.** Corte transversal de lámina a la altura del nervio principal; **G.** Corte transversal a la altura de epidermis y subepidermis; **H.** Detalle de macroclereidas en epidermis y subepidermis.

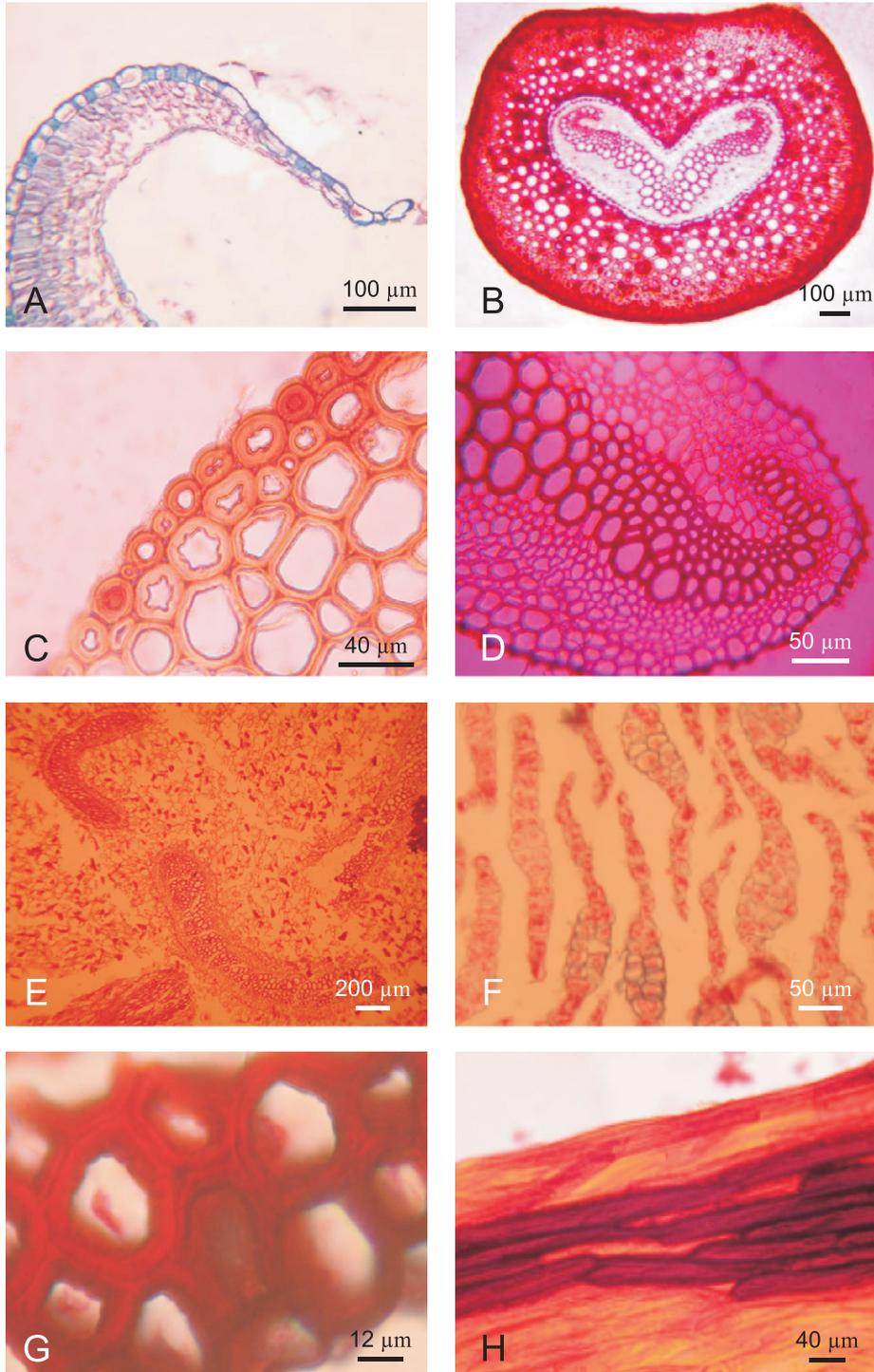


Fig. 3. *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia*. **A.** Corte transversal de lámina a la altura del margen reflexo; **B.** Corte transversal de peciolo; **C.** Detalle de epidermis y corteza de peciolo; **D.** Detalle del cilindro central; **E.** Corte transversal de rizoma mostrando meristemas; **F.** Corte transversal de escamas en diferentes estadios de maduración. **G.** Detalle de macroesclereidas de la escama, en corte transversal; **H.** Detalle de macroesclereidas de la escama, en corte transversal.

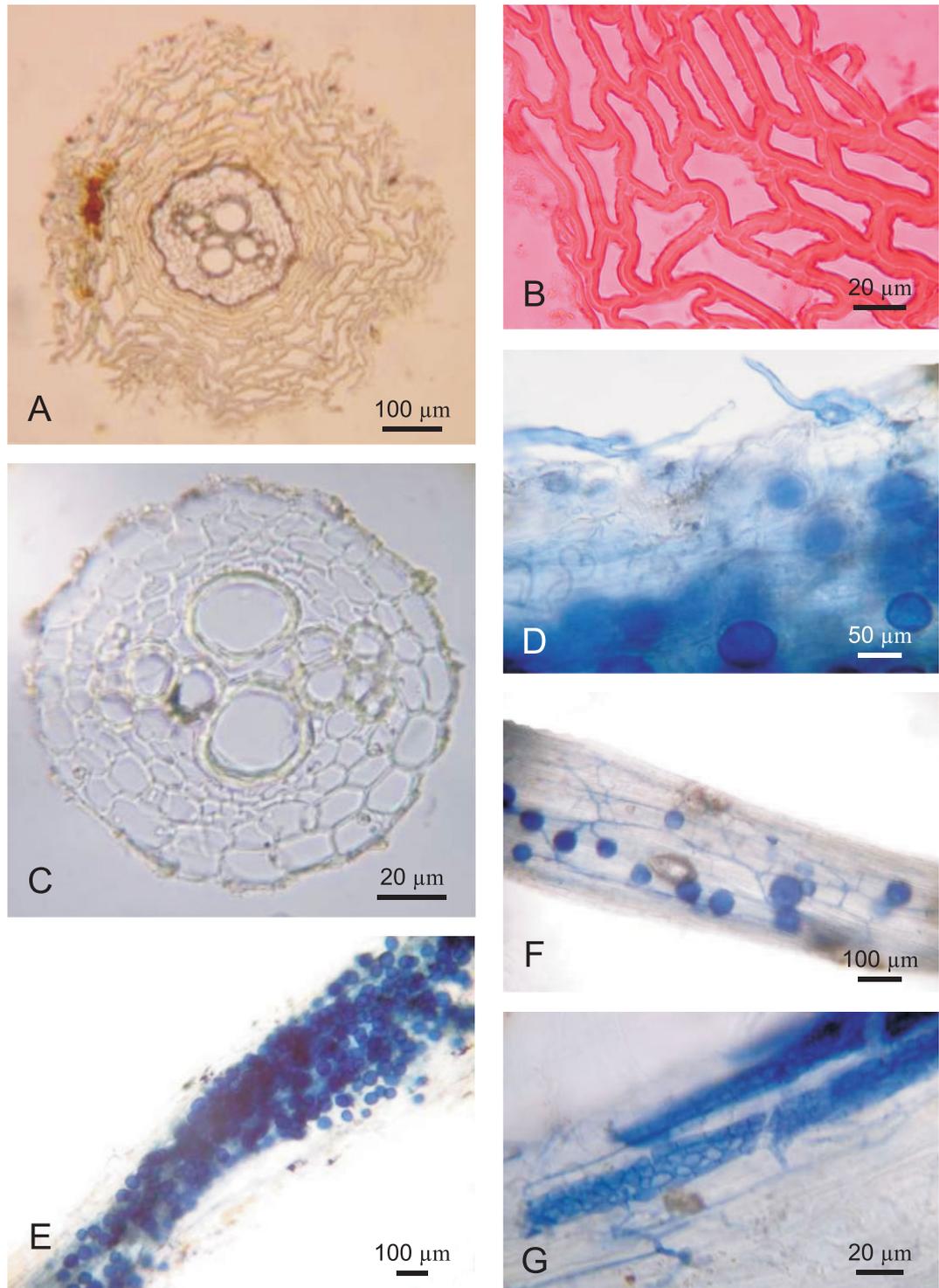


Fig. 4. *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *Ternifolia*. **A.** Corte transversal de raíz adventicia; **B.** Detalle de epidermis y corteza de raíz; **C.** Detalle de estela diarca; **D.** Apresorio en superficie de raíz; **E.** Raíz cubierta de vesículas; **F.** Detalle de vesículas con micélio interconectado; **G.** Hifas ramificadas moniloides intracelular.

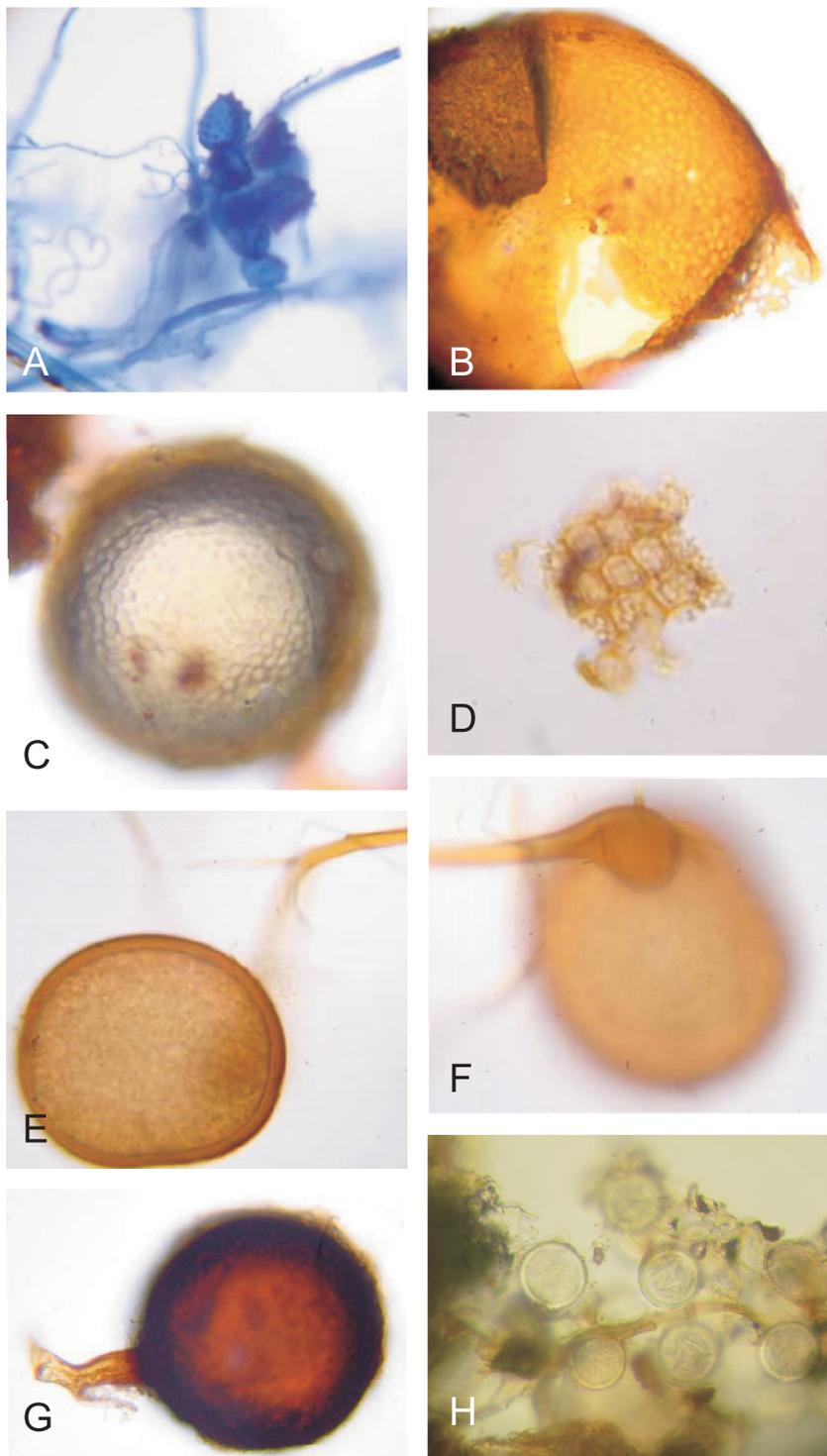


Fig. 5. *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia*. Esporas y esporocarpos. **A.** Vesículas equinuladas; **B.** *Acaulospora scrobiculata*; **C.** *A. gerdemannii*; **D.** *A. birreticulata*, detalle de la ornamentación y el retículo; **E.** *Gigaspora* sp. espesor de pared; **F.** *Gigaspora* sp. Detalle de la hifa sustentora y suspensor bulboso en la unión con la espora; **G.** *Glomus* sp.₁; **H.** Esporocarpo de *Glomus* sp.₂.

