

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

REVISTA DEL MUSEO DE LA PLATA
(NUEVA SERIE)

TOMO XIV

Botánica n° 108

**ANÁLISIS CON MEB Y MO DE CARACTERES
EPIDÉRMICOS FOLIARES EN MARATTIACEAE
SENSU LATO**

Cristina Rolleri

María del Carmen Lavalle

ANÁLISIS CON MEB Y MO DE CARACTERES EPIDÉRMICOS FOLIARES EN MARATTIACEAE SENSU LATO

Cristina Rolleri

María del Carmen Lavalle

RESUMEN

Estudios previos de caracteres epidérmicos en *Marattiaceae* *Angiopteris* Hoffmann, *Danaea* J. E. Smith y *Marattia* Sw. (Rolleri, Deferrari y Lavalle 1991a) y la revisión de *Christensenia* Maxon (Rolleri 1993) llevaron a analizar nuevos caracteres de eventual valor sistemático, tales como: convexidades de las paredes periclinales externas de las células epidérmicas (domos y papilas s. stricto), tipos y distribución de ornamentaciones cuticulares y de cera epicuticular, el modelo de la membrana cuticular, y los caracteres de las células oclusivas. El estudio se efectuó en superficie y en secciones transversales, con microscopio óptico (MO) y electrónico de barrido (MEB), en 5 especies de *Angiopteris*, 2 especies y 1 subespecie de *Christensenia*, 8 especies de *Danaea* y 11 especies de *Marattia*.

Las convexidades de las paredes externas de las células epidérmicas son típicas de los hipofilos de *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*, los cuales presentan domos de altura variable, lisos u ornamentados. Las epidermis de este tipo han sido llamadas "subpapelosas". Papilas sensu stricto se observaron solamente sobre la costa de las pinnas en esos 3 géneros.

Las cutículas ornamentadas (filigrana, estrías y pliegues) se presentan en *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*. La cera epicuticular también se presenta en los tres géneros, con diferencias cuali-cuantitativas en densidad y morfología. Es más abundante y diversa en *Angiopteris* y *Marattia* y más escasa en *Danaea*.

La membrana cuticular se estudia por primera vez para Pteridophyta y helechos eusporangiados. Está formada por una cutícula y un área subcuticular pectinada, dispuesta sobre una delgada pared de celulosa pura. El modelo hallado es común a los cuatro géneros estudiados.

Los caracteres de las células oclusivas permiten definir un estoma "marattiáceo" notablemente difundido en *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*, caracterizado por contorno elíptico; borde epidérmico de oclusivas y reborde interno de poro engrosados; pared de contacto de oclusivas generalmente engrosada (con barras o bastones polares presentes); algún tipo de pieza polar (en "T" o de otros tipos), pared externa de oclusivas sobreelevada y con frecuencia estriada; y dos áreas polares deprimidas en cada oclusiva, siempre presentes. También se desprende de este estudio el valor diagnóstico, a nivel específico, de algunos caracteres de oclusivas, al menos para el caso de *Danaea*. *Christensenia* difiere por sus estomas porociclotícos con oclusivas semilunares arqueadas, pero también presenta barras o bastones polares y borde epidérmico engrosado.

Los cuatro géneros estudiados se relacionan entre sí con afinidad variable. *Angiopteris*, *Christensenia*, *Danaea* y *Marattia* presentan el mismo modelo de membrana cuticular. Excepto *Christensenia*, los otros tres géneros se vinculan por el tipo morfológico de estoma, las epidermis subpapelosas, las ornamentaciones cuticulares frecuentes y la presencia de algún tipo de cera epicuticular. Considerando lo aquí observado y otros caracteres epidérmicos foliares previamente estudiados, *Angiopteris* y *Marattia* presentan más afinidades entre sí que con *Danaea*, aunque el estoma marattiáceo descrito también está presente en ese género. *Christensenia*, posiblemente debido a una adaptación peculiar al medio, difiere de todos por sus estomas porociclotícos, pero sus modelos epidérmicos y otros caracteres (indumento glandular) indican afinidades con *Danaea*.

Palabras Clave: Análisis MO v MEB - Membrana cuticular - Caracteres de células oclusivas - Marattiaceae sensu lato

ABSTRACT

SEM and OM studies of epidermis in pinnae of Marattiaceae sensu lato. Previous studies of the epidermal characters of the *Marattiaceae* s.l. - including *Angiopteris* Hoffmann, *Danaea* J.E. Smith and *Marattia* Sw. (Rolleri, Deferrari and Lavalle, 1991a), and a revision of *Christensenia* Maxon (Rolleri, 1993) - led to an analysis of new characters that may be of systematic value, such as: projections of the outer periclinal cell walls (domes and papillae s. str.), types and distribution of cuticular membrane (including cuticle proper and cuticular layers in the broad sense), and the characters inherent in the morphology of guard cells.

The research was carried out through surface and cross-cut views, with scanning electronic microscope (SEM) and optical microscope (OM) on 5 species of *Angiopteris*, 2 species and 1 subspecies of *Christensenia*, 8 species of *Danaea*, and 11 species of *Marattia*.

The projections of the outer periclinal cell walls (domes and papillae, s.str.) are typical of the hypophylls in *Angiopteris*, *Danaea*, and *Marattia*, which present smooth or ornamented domes of variable height. This kind of epidermis has been termed "subpapillose". Papillae s.str. have only been observed on the costa of pinnae in those 3 genera.

The cuticular foldings (filigree, striae, and ridges) are present in *Angiopteris*, *Danaea*, and *Marattia*. The epicuticular wax is also present in these genera, showing some qualitative differences as to density and morphology. It is more abundant and diverse in *Angiopteris* and *Marattia*, and scarcer in *Danaea*.

The cuticular membrane is here studied for the first time for Pteridophyta and eusporangiate ferns. It is formed by a cuticle and a pectinated subcuticular layer resting on a thin wall of pure cellulose. The model is shared by the 4 genera here considered.

The characters of the guard cell lead to define a "marattiaceous" kind of stoma noticeably spread through *Angiopteris*, *Danaea*, and *Marattia*, which is characterized by an elliptical outline (elongate); guard cells with thickened walls, both epidermal and poral; a generally thickened common wall between guard cells (polar rods or bars); some kind of polar pieces always present ("T" pieces or some other kind); external cell wall surface of the guard cells either domed (outer stomata ledges or rims) striated, or both, and 2 thin-walled (polar) areas at the end of the guard cells. Although *Christensenia* has porocyclocytic stomata with crescent-shaped, strongly arcuate guard cells, it also shows polar rods or bars and a thickened epidermal wall in its guard cells.

The genera under study relate among themselves variably. *Angiopteris*, *Christensenia*, *Danaea*, and *Marattia* share the same model of cuticular membrane. Save for *Christensenia*, the other genera are united by the morphological type of stomata, the subpapillose epidermis, the frequent cuticular ornamentations, and the presence of some type of epicuticular wax. Considering these observations plus other leaf epidermal characters, already studied, *Angiopteris* and *Marattia* are more closely related to each other than to *Danaea*, although the "marattiaceous" stomata already described is also present in the latter. Possibly due to a peculiar adaptation to the environment, *Christensenia* is more distantly related because of its porocyclocytic stomata, but its epidermal models and other characters (glandular indument) point to affinities with *Danaea*.

Key words: SEM and OM analyses - cuticular membrane - morphology of guard cells - Marattiaceae sensu lato.

INTRODUCCION

En trabajos previos de Rolleri, Deferrari y Ciciarelli (1987), Rolleri, Deferrari y Lavalle (1991a, 1991b) y Rolleri (1993), se estudiaron caracteres epidérmicos superficiales en pinnas de *Angiopteris* Hoffman,

Christensenia Maxon, *Danaea* J.E. Smith y *Marattia* Sw., tales como modelos celulares, estomas, indumento y paráfisis. Esos trabajos se amplían aquí con el análisis, mediante microscopía óptica (MO) y electrónica de barrido (MEB), de nuevos caracteres epidérmicos: secciones transver-

sales de epidermis foliar; modelo y naturaleza química de la membrana cuticular; presencia, tipos y localización de ornamentaciones cuticulares en células oclusivas, epidérmicas y anexas; presencia y tipos de cera epicuticular; y caracteres morfológicos de células oclusivas. Se comparan los cuatro géneros mencionados, se analiza el valor diagnóstico de los caracteres observados y se hacen consideraciones respecto de aspectos fisiológicos y afinidades intergenéricas, sobre la base de lo que se conoce hasta el momento sobre el tema general amplio de la morfología epidérmica como fuente de evidencia taxonómica.

Toda la bibliografía existente sobre los caracteres estudiados se refiere a Angiospermas y, en menor medida, a Gimnospermas. Las ondulaciones de pared externa, la cutícula y las ornamentaciones cuticulares, la membrana cuticular y la cera epicuticular, así como los caracteres morfológicos en células oclusivas y anexas, son estudiados muy detalladamente en numerosas familias de plantas con flores. Pese a ello, la interpretación sobre el valor diagnóstico de esos caracteres muestra una gran discrepancia y los análisis de aspectos fisiológicos o de origen adaptativo son escasos y variables. No existe bibliografía que trate estos temas en los helechos eusporangiados.

Las ondulaciones de pared externa (convexidades de altura variable, domos, papilas, etc.) suelen interpretarse como caracteres que varían con el ambiente y que carecen, por lo tanto, de valor diagnóstico. Wilkinson (1979) analiza este problema y actualiza la bibliografía al respecto, aunque puntualiza que la forma y los tipos de ondulaciones de pared externa sí serían diagnósticos en plantas con flores, no siéndolo, en cambio, la presencia o ausencia de tales convexidades.

Stahl (1896), Brener (1900) y Haberlandt (1965: 110) van más allá del aspecto descriptivo y analizan el papel fisiológico de las epidermis con domos (subpapilosas o papilosas) considerando que esas

convexidades de la pared celular externa tienen una importancia ecológica muy destacada en plantas de ambientes selváticos, ya que contribuirían a la remoción rápida del agua de la superficie foliar y, a la vez, a la condensación de la luz.

La morfología, distribución y valor diagnóstico de la cera epicuticular varían según los diferentes autores. Comúnmente relacionada con plantas de ambientes áridos o áreas expuestas, su presencia en plantas umbrófilas o de selvas lluviosas parece relacionarse con la absorción y distribución de la luz recibida (Barker, 1955; Thomas & Barker, 1974; Cameron, 1970; Whitecross & Armstrong, 1972). Son variables las interpretaciones sobre el valor diagnóstico de este carácter (Hallan & Chambers, 1970; Martin & Juniper, 1970.).

La bibliografía referente a plantas superiores -en general angiospermas dicotiledóneas- parece indicar que la cera epicuticular presente en hojas de sombra (glaucas) desaparece o se "derrite" cuando esas plantas se exponen, eventualmente, al sol (McNair, 1929; Mueller, Carr & Loomis, 1954; Martin & Batt, 1958; Martin & Juniper, 1970; Fisher & Bayer, 1972); pero nada de lo previamente estudiado trata sobre helechos en sentido amplio o eusporangiados en particular. Solamente Jones (1987) menciona la presencia de cera epicuticular de origen glandular, secretada por "pelos glandulares" en helechos leptosporangiados que crecen en condiciones de exposición al sol, en tanto que ese mismo autor menciona "cera de otra naturaleza" en helechos que crecen en condiciones totalmente opuestas (selvas lluviosas, etc.). Jones (1987) cita a "*Angiopteris crinita*" pero no aporta su fuente de información ni otros datos.

Los estudios sobre membrana cuticular son numerosos para plantas con flores y fueron recientemente resumidos por Holloway (1982). No hay en ellos referencias a modelos de membrana cuticular en helechos en sentido amplio o eusporangiados en particular.

Los caracteres de células oclusivas fue-

ron considerados de importancia diagnóstica por diversos autores (Solederer, 1908; Grambast, 1954; Stace, 1966; Jahnicken, 1969; Baranova, 1972; Bongers, Jansen & van Staveren, 1973), siempre en epidermis de hojas angiospérmicas. El contorno estomático elongado, de acuerdo con las observaciones de esos autores, estaría vinculado con plantas de ambientes húmedos a selváticos típicos, por lo que sería de carácter adaptativo.

Los demás caracteres de células oclusivas -piezas polares, rebordes de pared poral o epidérmica, etc.-, son sumamente variables de acuerdo con los estudios citados y en general considerados de interés a nivel genérico o, más comúnmente, específico.

Las áreas incoloras adelgazadas polares que aquí se describen para el estoma marattiáceo más difundido en los géneros estudiados, sólo se han citado en *Polygalaceae* (Dicotiledóneas) y en *Poaceae* s.l. (Wilkinson, 1979), no conociéndose estudios morfológicos o fisiológicos para Pteridophyta.

La terminología utilizada aquí sigue la de Wilkinson (1979) para tipos estomáticos, caracteres epidérmicos en secciones transversales y ornamentaciones cuticulares en general, y la de Ameluxen, Morgenroth y Picksak (1967) para tipos de cera epicuticular, con aclaraciones o agregados de las autoras cuando ha sido necesario. Para la descripción de las células oclusivas se siguió a Simón (1991), quien modificó las terminologías previas de Stace (1965) y Wilkinson (1979). La interpretación de la membrana cuticular, así como su análisis, corresponde a las autoras, ya que no existen modelos conocidos o propuestos previamente para helechos eusporangiados.

Los cuatro géneros estudiados viven en condiciones similares: alta humedad ambiental, suelos húmedos y sombra. Además, *Angiopteris* y *Danaea* parecen crecer preferentemente en suelos humíferos ácidos con buen drenaje. *Marattia*, si bien crece en condiciones similares, parece te-

ner mayor tolerancia a la exposición lumínica. *Christensenia* no sólo requiere humedad y suelos ácidos bien drenados, protección y sombra, sino que parece ser el género más sensible al frío.

MATERIALES Y METODOS

El material utilizado procede de los herbarios del Instituto Miguel Lillo, Tucumán (LIL); Museo de La Plata (LP); Museo de Historia Natural de París (P); Instituto de Botánica "Darwinion" (SI), y United States National Herbarium, del Instituto Smithsonian, Washington, D.C. (US). Para consultar la procedencia del mismo se remite a los trabajos previos de Rolleri, Deferrari y Ciciarelli (1987), Rolleri, Deferrari y Lavalle (1991a, y 1991b) y Rolleri (1993), aunque en ilustraciones y fotografías se consigna el material correspondiente para referencia del lector.

El material estudiado incluye 5 especies de *Angiopteris* (*A. angustifolia* K. Presl, *A. cartilaginea* Christ, *A. evecta* (Forster) Hoffmann, *A. lygodiifolia* Ros., y *A. pruinososa* Kunze; el género *Christensenia* (*C. aesculifolia* (Blume) Maxon subsp. *aesculifolia*, *C. aesculifolia* subsp. *korthalsii* (de Vriese) Rolleri y *C. lobbiana* (de Vriese) Rolleri, Rolleri 1993); 8 especies de *Danaea* (*D. alata* J.E. Smith, *D. cuspidata* Liebm., *D. elliptica* J.E. Smith, *D. excurrens* Ros., *D. grandifolia* (L.) Underw., *D. nodosa* J.E. Smith, *D. moritziana* K. Presl y *D. wendlandii* Reichenbach f.) y 11 especies de *Marattia* (*M. alata* Sw., *M. attenuata* Labill., *M. douglassii* (K. Presl) Baker, *M. excavata* Underw., *M. interposita* Christ, *M. fraxinea* J. E. Smith, *M. kaulfussii* J. E. Smith (= *M. laevis*), *M. pellucida* K. Presl, *M. silvatica* Blume, *M. raddii* Desv., y *M. wernerii* Ros.).

Para el estudio realizado se utilizaron muestras de material de herbario restaurado e hidratado. Parte del mismo se usó, sin otro procesamiento, para realizar pruebas microquímicas. Otra parte se aclaró con NaOH 2% acuoso y se conservó durante 4 semanas en una mezcla de alcohol etílico 96%, glicerina, agua destilada y

formalina, con el fin de mejorar la firmeza y cohesión histológica del material diafanizado. El uso de esta solución también parece mejorar los procesos posteriores de coloración.

Las coloraciones generales aplicadas fueron: Safranina-Fast Green 2% en metil cellosolve; Azul de Anilina 1% en partes iguales de metil cellosolve y alcohol 100% y Chlorazol Black E (todas según Gurr, 1965); cloruro férrico-ácido tánico (Foster, 1934) y Rojo de Rutenio 1% acuoso (Rolleri, 1993) para aclarados y cortes transversales de epidermis. Entre 15 y 20 preparados de cada especie fueron montados en "Cytoseal 280" y se conservan en el Museo de La Plata.

Para efectuar pruebas microquímicas se utilizaron preparados transitorios, arrancados epidérmicos y cortes a mano alzada. Para poner en evidencia la naturaleza química y morfología de la pared celular, membrana cuticular y células oclusivas se utilizaron las siguientes pruebas: Sudán III y IV saturados en alcohol 70% (Johansen, 1940), Sudán IV saturado en alcohol isopropílico (Rolleri, 1993), Azul de Anilina 1% en una mezcla 1:1 de metil cellosolve y alcohol 100% (Gurr, 1965), cloruro de cinc iodurado (D'Ambroggio de Argüeso, 1986), Eritrosina 1% en lactofenol, Azul de Toluidina 0,05 acuoso y ácido per-iódico-Schiff (PAS), todos según Gurr (1965); y Rojo de Rutenio y Azul de Metileno, ambos según Johansen (1940) y Venning (1954).

Para probar la solubilidad de las ceras se utilizó éter (Johansen, 1940), cloroformo y acetona.

El estudio con MO se realizó en el "Laboratorio de Estudios de Anatomía Vegetal Evolutiva y Sistemática" (LEAVES) del Museo de La Plata y el análisis con MEB se llevó a cabo en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de ese Instituto.

Realizó las ilustraciones y diagramó el material fotográfico la Lic. Virginia Dubarbier de Natoli (CONICET).

OBSERVACIONES

1 - Las células epidérmicas, en superficie y en secciones transversales de las pinnas

Los *epifilos* se presentan más o menos lisos, tanto en superficie como en corte transversal. Las paredes periclinales externas de las células epidérmicas son lisas y muy rara vez se destaca alguna suave ondulación en ellas. Se trata de elementos de sección subrectangular, 2-4 veces más largos que anchos, que pueden alternar, al azar, con otros elementos más o menos isodiamétricos.

La pared externa está cutinizada y la cutícula propiamente dicha presenta espesores que varían entre 0,5 y 1,5 μm . Los mayores espesores observados corresponden, en general, a elementos celulares de epidermis de especies de *Marattia* y los menores a especies de *Christensenia*.

Los *hipofilos*, por el contrario, rara vez se ven lisos: por lo general están formados por elementos celulares cuyas paredes periclinales externas exhiben algún grado de convexidad. La cutícula tiene espesores que van desde 0,5 hasta 2,0 μm ; correspondiendo los mayores espesores a especies de *Marattia* (aunque es necesario aclarar que los espesores pueden variar en las áreas sobre costa, lámina o margen de las pinnas de una misma especie).

Las observaciones efectuadas con MEB muestran que en los hipofilos es frecuente algún tipo o tipos de ornamentación cuticular. También se halló cera epicuticular de origen no glandular en especies de *Angiopteris* y *Marattia*.

1.1 - Convexidades de pared periclinal externa (Figs. 1-2)

Las convexidades de pared periclinal externa son clasificadas por Wilkinson (1979) en domos y papilas s. str. Los domos son las convexidades que, en número de 1 o varias por célula, involucran sólo un

área central circunscripta de la pared externa, o bien toda la pared externa. Las papilas sobresalen en formas globulares, esféricas, cónicas, cilíndricas (digitiformes), coronuladas y ramificadas (Wilkinson, 1979).

La transición entre domos y papilas s. str., y entre papilas y tricomas 1-celulares es a veces muy difícil de determinar (varias formas de tales transiciones se observan sobre las venas y láminas de especies de *Christensenia* (Rolleri, 1993). No es fácil establecer categorías estrictas.

En los hipofilos observados, las convexidades de pared externa parecen caer más bien en la categoría de domos, involucrando el área sobresaliente una o más zonas de la pared celular externa. Se encuentran domos bajos, en número de 1 a varios por célula, y domos altos y sobresalientes, en número de 1-3, raro más. Los domos se hallan siempre en zonas interestomáticas y es raro que las anexas presenten tales convexidades.

Papilas s. str., globulares o cónicas, son características de las áreas de epidermis sobre costa o sobre venas secundarias. Excepto en especies de *Christensenia*, no se presentan sobre la lámina.

Por lo anterior, los hipofilos de *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia* pueden considerarse, cuando presentan convexidades como las descritas, como subpapilosos; mientras que son papilosas las epidermis correspondientes a venas secundarias y costa.

Epidermis subpapilosas con ondulaciones de pared externa distribuidas al azar (1-varios domos bajos por célula) aparecen en *Danaea* y *Marattia*. Los domos más bajos se presentan en *D. cuspidata*, *D. excurrens*, *D. wendlandii* (Fig. 1,C) *M. attenuata* (Fig. 1,A), *M. fraxinea*, *M. pellucida* (Fig. 1,B), *M. interposita*, *M. raddi* y *M. wernerii*.

En especies de *Angiopteris* los domos son comparativamente más altos y evidentes, lisos u ornamentados. Son lisos, en número de 2-3 por célula, en *A. cartilaginea* (Fig. 2,A) y *A. evecata*. Son estriados,

con estrías onduladas a ondulado-verru-cosas, en *A. angustifolia* (Fig. 2,B), *A. lygo-diifolia* y *A. pruinosa*.

Algunas especies de *Marattia* (*M. attenuata*, *M. fraxinea* y *M. raddi*) también presentan domos estriados a estriado-verru-cosos, pero más bajos que los hallados en especies de *Angiopteris*. Otras especies de *Marattia* (*M. douglassii*, *M. excavata* y *M. kaulfussii*) exhiben epidermis con paredes periclinales externas onduladas o plegadas, pero no se observan verdaderos domos.

Christensenia presenta papilas dispuestas al azar sobre láminas y venas. Son raras sobre venas de *C. aesculifolia* subsp. *aesculifolia*, están ausentes en las láminas de esa subespecie, pero aparecen papilas s. str., globosas o cilíndricas en láminas y sobre venas de cualquier orden en *C. aesculifolia* subsp. *korthalsii* y *C. lobbiana* (Rolleri, 1993), muy diferentes de las convexidades de pared periclinal externa descritas para *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*. De hecho, intergradan con tricomas diversos, carácter éste no observado en otros géneros.

1.2 Ornamentaciones cuticulares (Figs. 1 - 5)

Se encontraron en especies de *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*, no habiéndose observado en *Christensenia*.

Las autoras, ante la diversidad de los términos aplicados a los variados plegamientos presentes en las cutículas (Wilkinson, 1979), han optado por redefinir algunos preexistentes (Wilkinson, 1979) y consideran:

- **filigrana**: los pliegues finos, delgados, próximos entre sí y a veces entrecruzados en retículo regular o irregular, invisibles con MO y visibles con MEB;

- **estrías**: los pliegues comparativamente más gruesos, generalmente paralelos, a veces ondulados, siempre con el aspecto de arrugas más o menos ordenadas, de recorrido recto o no, visibles con

los mayores aumentos del MO y, por supuesto, claramente detectables con MEB, y

- **pliegues:** las arrugas cuticulares de mayor altura que las anteriores, con "cimas" redondeadas y suavemente curvas, a veces con surcos marcados entre ellas y, por lo común, menos densamente dispuestas.

La filigrana y las estrías suelen estar presentes con densidad marcada, en tanto que los pliegues aparecen más raramente, más erráticamente y su número en las células, salvo excepciones, puede contarse fácilmente.

Se observó filigrana en *D. excurrens* (Fig. 3, B), *D. elliptica* (Fig. 3, A) y *M. attenuata* (Fig. 1, A), dispuesta en un retículo muy fino.

Se encontraron estrías con recorrido más o menos ondulado en *A. evecta* (Fig. 4, A) y *D. cuspidata* (Fig. 4, B). Estrías de recorrido generalmente más recto o uniforme aparecieron en *D. alata*, *D. nodosa*, *M. alata*, *M. interposita* y *M. pellucida*. Estrías muy onduladas a verrucosas se hallaron en *A. angustifolia* (Fig. 2, B), *A. lygodiiifolia*, *A. pruinosa*, *M. fraxinea* y *M. raddi*.

Los pliegues, finalmente, se encontraron en *A. cartilagidens* (Fig. 5, B), *M. douglassii* (Fig. 5, A) y *M. weneri*, dispuestos erráticamente, anchos y paralelos entre sí en células de *A. cartilagidens*, más finos pero visibles con MO en *M. douglassii* y *M. weneri*, especies en las cuales a veces es difícil seguir el contorno tangencial de las células epidérmicas por la presencia de plegamiento cuticular distribuido al azar.

1.3 Cera epicuticular (Figs. 6 - 7)

Se observó en especies de *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*. Aparece en forma de gránulos, filamentos irregulares y escamas, aislados, mezclados diversamente o en agregados mixtos o formando a veces una cubierta continua que enmascara otros caracteres de superficie (cera en placas).

En especies de *Danaea* se halló cera en

gránulos, dispuestos al azar, aislados o en pequeños grupos y localizados erráticamente sobre células epidérmicas y sobre estomas (más comúnmente sobre anexas que sobre oclusivas). La cera granular es especialmente notable en *D. nodosa* y *D. cuspidata*. Los gránulos de cera también se encontraron en especies de *Marattia*, mezclados a veces con bastones o filamentos cortos, especialmente en *M. alata*, *M. douglassii*, *M. excavata*, *M. pellucida* y *M. weneri*. En *A. angustifolia* (Fig. 6, A) y en *M. weneri* se observó también impregnación de cera en placas delgadas sobre las células epidérmicas cutinizadas.

Cera en escamas, con el aspecto de laminillas escumiformes más o menos paralelas, y distribuida predominantemente en las paredes de contacto de las células epidérmicas y, en menor proporción, en las paredes anticlinales de las mismas, se encontró en *M. attenuata* (Fig. 6, B-C).

Agregados mixtos, es decir, gránulos, bastones, filamentos y escamas variadas, se presentaron en las epidermis de *A. pruinosa* (Fig. 7, A-B). En *A. angustifolia* se hallaron gránulos y pequeñas escamas aisladas en la superficie de la epidermis con sus característicos domos estriado-verrucosos.

2 - LA MEMBRANA CUTICULAR

(Figs. 8 y 10)

La cutícula propiamente dicha es una capa de espesor variable (0,5 a 2,5 μm). Los espesores menores se midieron en células epidérmicas de *Christensenia*, y los mayores, en especies de los 3 géneros restantes. El área papilosa o subpapilosa de las costas siempre se caracteriza por presentar espesores cuticulares de hasta 3,0 μm en los cuatro géneros observados.

Las especies de *Angiopteris* y *Marattia* son las que muestran los mayores espesores cuticulares (1,0 - 2,0 μm); en las especies de *Danaea* se encuentran espesores intermedios (0,5 - 1,0 μm) y los menores se hallan en *Christensenia* (0,3 - 1,0 μm),

Por debajo de la cutícula se encuentra una zona de hasta 10 - 12 μm de espesor, separando la cutícula propiamente dicha de la pared celular (que tiene entre 1,0 y 3,0 μm de espesor, aproximadamente). La mencionada área, situada entre la cutícula y la pared celular, corresponde topográficamente a lo que suele denominarse "capa cuticular" o "capas cuticulares" ("*cuticular layer*" o "*cuticular layers*", Esau, 1953; Holloway, 1982). Esa región de la membrana cuticular es llamada también por Esau (1953) "capa cutinizada" y es aquélla en la cual se produce intususcepción de cutina, ceras y otras sustancias grasas relacionadas, en la matrix celulósica. En especies de *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*, esta capa, de hasta 10 - 12 μm de espesor, da una respuesta muy débil ante las pruebas para esas sustancias en un área subcuticular de 1,0 - 1,5 μm de espesor, en tanto que las mismas pruebas dan reacción negativa en todo el resto de la zona mencionada. El límite de la cutícula pura es generalmente muy claro en las especies bajo estudio y con las pruebas microquímicas realizadas.

Según los modelos propuestos para la membrana cuticular, resumidos por Sargent (1976) y Holloway (1982), la región en que la membrana cuticular se une a la pared celular se colorea intensamente con Rojo de Rutenio. Martin y Juniper (1970) llaman a esa región "capa péctica". Es de destacar que todos los estudios realizados sobre este tema corresponden a epidermis de plantas vasculares superiores, y los autores mencionados (Martin y Juniper, 1970; Sargent, 1976; Holloway, 1982), entre otros, no parecen estar de acuerdo en interpretar esta capa péctica como parte de la membrana cuticular (Sitte y Renier, 1963) o como una capa extra en esa zona, o bien como una parte de la pared propiamente dicha.

En especies de *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia* las áreas o regiones que se determinaron con precisión fueron las siguientes: una interna (pared celular) de 1,0 - 3,0

μm de espesor, compuesta por celulosa pura; una intermedia, de hasta 10 - 12,7 μm de espesor, de celulosa fuertemente impregnada de sustancias pécticas; y una capa de cutícula (adcrustación) de 0,5 - 1,5 μm (Fig. 8 y Fig. 10, F, G, O, P y W').

Las pruebas microquímicas muestran una disminución muy gradual de la pectinización en la zona intermedia, desde adentro hacia afuera, es decir, hacia la cutícula propiamente dicha; y, en el límite entre ambas regiones, puede hallarse una capa muy delgada que da reacción positiva muy débil a las pruebas para lípidos o grasas (aunque esta delgada zona puede faltar). El aumento gradual de la pectinización se registra desde afuera hacia adentro, y la coloración con Rojo de Rutenio aumenta en intensidad hacia la porción limitante con la pared celular y en las cuñas cuticulares intercelulares ("*cuticular pegs*" de Holloway, 1982) que se proyectan hacia el interior, en los espacios entre las paredes anticlinales de células epidérmicas adyacentes. La reacción positiva de estas cuñas intercelulares a la prueba para pectinas es muy notable (Fig. 10, F y G).

Las coloraciones específicas y la decutinización con álcalis indican claramente el límite de la cutícula pura, así como las pruebas para celulosa dan respuesta positiva, indicando el área correspondiente a la pared celular. Las reacciones a las pruebas para pectinas se registran en el área entre ambas, y son particularmente intensas las respuestas al Rojo de Rutenio, el cual da una coloración marcada y pareja. Si bien el Rojo de Rutenio no es una prueba específica para pectinas, sino para grupos ácidos en general, en esa región también dan positivas las pruebas del Azul de Toluidina y del ácido periódico - Schiff, las que, al menos, están indicando su naturaleza química vinculada con grupos ácidos y polisacáridos. El tratamiento con HCl precipita una masa granular que luego puede utilizarse para las "pruebas por ausencia" (Johansen, 1940), para sustancias pécticas.

Si bien existen numerosos estudios sobre la cutícula y la membrana cuticular, el modelo hallado para las especies estudiadas difiere de los previamente descritos. No parecen estar presentes "capas cuticulares" de importancia; es decir, que la adcrustación de cutina parece, en general, estar restringida a una delgada capa externa. Tampoco se observó, como en algunos modelos descritos para Angiospermas (Martin y Juniper, 1970) una capa o lámina péctica delimitada o bien definida.

El modelo hallado responde al esquema de la Fig. 8 y exhibe 3 zonas: la cutícula propiamente dicha; la capa pectinada (en contacto con la pared celular formada por celulosa pura) y entre ambas una zona que indica débil intususcepción lipídica, que puede estar ausente. La "capa cutinizada", ya que no puede hablarse de "capas cuticulares", está restringida al área que aparece punteada en el esquema de la Fig. 8. Esa zona no aparece en las especies estudiadas de *Danaea* (Fig. 10, P).

La "lámina" o "capa péctica", que se para la capa cutinizada y la pared, no se parece a la descrita para Angiospermas. Está presente una zona muy reactiva a las pruebas microquímicas para polisacáridos y pectinas que, en este modelo, es la que exhibe el mayor espesor relativo.

3 - Las células oclusivas

3.1 Engrosamientos de la pared externa (Figs. 9 - 13)

Las células oclusivas (Fig. 9), en vista superficial, presentan engrosamientos localizados. Estos engrosamientos aparecen en la pared poral, en las paredes epidérmicas de las oclusivas (borde epidérmico) y en las paredes de contacto de las mismas. También se observaron engrosamientos polares y, más raramente, rebordes externos del poro (reborde ostioar externo).

Los engrosamientos de pared poral son constantes en las especies de *Angiopte-*

ris, *Danaea* y *Marattia*. En *Angiopteris* y *Marattia* son comunes los rebordes de pared poral denticulado-crenados, como en *A. angustifolia* (Fig. 10, A), *A. pruinosa* (Fig. 10, E), *M. alata* (Fig. 10, Q), *M. douglassii* (Fig. 10, S), *M. interposita* (Fig. 10, T), *M. fraxinea* (Fig. 10, U - U') y *M. pellucida* (Fig. 10, V). Menos comúnmente se presentan rebordes de pared poral engrosados y densamente estriados (*M. fraxinea*, Fig. 10, U y U'). En *Christensenia* el reborde poral de las oclusivas no está significativamente engrosado, pero sí es irregularmente indentado - crenado (Fig. 10, Y).

La pared de contacto de las oclusivas puede estar engrosada o no. Barras o "bastones" polares rectos que se unen al reborde poral o a piezas polares de algún tipo son comunes en *Angiopteris*, *Christensenia*, *Danaea* y *Marattia*. Barras polares largas, cada una de aproximadamente un tercio del largo total del estoma (correspondiendo, el otro tercio restante, a la longitud total del poro), notablemente engrosadas, se presentan en *A. pruinosa* (Fig. 10, E), *D. elliptica* (Fig. 10, I y Fig. 11, B), *D. grandifolia* (Fig. 10, K), *M. alata* (Fig. 10, Q), *M. fraxinea* (Fig. 10, U-U'), *M. pellucida* (Fig. 10, V), *M. raddii* (Fig. 10, W y Fig. 11, A) y *M. silvatica* (Fig. 10, X). Barras polares más cortas aparecen en *A. cartilagidens* (Fig. 10, B), *M. douglassii* (Fig. 10, S), *M. interposita* (Fig. 10, T) y en *Christensenia*, en cuyos estomas las barras polares se extienden en toda el área de contacto de las oclusivas semilunares arqueadas (Fig. 10, Y).

En ciertos casos el reborde poral engrosado se extiende desde un polo al otro del estoma y se presenta directamente unido a algún tipo de pieza polar: tal es el caso de *A. evecta* (Fig. 10, E), *A. lygodiifolia* (Fig. 10, D), *D. cuspidata* (Fig. 10, H), *D. excurrens* (Fig. 10, J y Fig. 11, C), *D. moritziana* (Fig. 10, L), *D. nodosa* (Fig. 10, M), *D. wendlandii* (Fig. 10, N) y *M. excavata* (Fig. 10, R). En este tipo de estoma, los rebordes porales se tocan entre sí en dos puntos con el aspecto de un poro triaper-turado, muy notable en algunas especies

de *Danaea*, como en *D. wendlandii* (Fig. 10, N) y de *Marattia*, como en *M. excavata* (Fig. 10, R y Fig. 12, A) y *M. wernerii* (Fig. 12, B).

Los engrosamientos polares presentan formas variables. Son comunes las piezas "en T", es decir, engrosamientos polares unidos a barras polares, engrosados diversamente, a veces muy conspicuos. Piezas "en T" se presentan en *A. angustifolia* (Fig. 10, A), *A. pruinosa* (Fig. 10, E), *D. elliptica* (Fig. 10, I y Fig. 11, B), *M. alata* (Fig. 10, Q), *M. fraxinea* (Fig. 10, U-U') y *M. raddii* (Fig. 10, W y Fig. 11, A). Piezas "en T" unidas al borde epidérmico de las oclusivas y conectadas a barras polares cortas y más o menos delgadas se presentan en *Christensenia* (Fig. 10, Y y Fig. 13, A).

En otros casos, los engrosamientos polares contactan directamente con el reborde poral de las oclusivas, sin barras polares y se presentan con forma de clavas, cuñas triangulares o romboidales sobre elevadas y a veces muy prominentes. Se observaron en *D. excurrens* (Fig. 10, J y Fig. 11, C), *D. moritziana* (Fig. 10, L), *D. wendlandii* (Fig. 10, N), *M. douglassii* (Fig. 10, S) y *M. excavata* (Fig. 10, R y Fig. 12, A). En *M. pellucida* se presentan diferentes piezas polares en estomas de la misma lámina, y por lo general coexisten dos o tres tipos de los mencionados (Fig. 10, V).

La pared externa de las oclusivas (borde epidérmico) puede presentarse engrosada uniformemente de polo a polo del estoma, o su espesamiento limitarse solamente a la parte curva de la pared de la célula oclusiva, adelgazándose luego en el tramo cercano a la pieza polar. La pared epidérmica de las oclusivas suele estar muy engrosada en *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*, y es relativamente delgada en *Christensenia*.

3.2 Las áreas incoloras y otros caracteres en la pared externa de las células oclusivas.

Los estomas de *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia* presentan una característica no registrada hasta el momento para Pteri-

dophyta sensu lato. La pared externa presenta áreas definidas, adelgazadas y deprimidas, localizadas en los dos polos de cada oclusiva, que aparecen siempre incoloras y exhiben contornos diversos en vista superficial (ovaladas, romboidales, elipsoidales, etc.). El resto de la pared, es decir la zona que no corresponde a estas áreas, está sobre elevada con respecto a ellas, y se colorea intensamente con Rojo de Rutenio y colorantes afines con sustancias pécticas, mientras que las áreas incoloras responden a pruebas para celulosa. La curvatura de la parte sobre elevada de estas paredes es muy notable en el área media y es menor hacia el borde epidérmico. Este carácter se observó tanto con MO como con MEB o en cortes transversales en los que se distinguen claramente los bordes epidérmicos de las áreas curvas de las oclusivas propiamente dichas. Los bordes epidérmicos muy marcados son característicos de *Danaea* y de *Marattia* pero también se presentan en las especies de *Angiopteris* observadas.

La pared curva de las células oclusivas en especies de *Angiopteris* y de *Marattia* puede presentar algún tipo de ornamentación cuticular, desde filigrana fina, reticulada o dispuesta al azar, estriás paralelas o perpendiculares al eje largo del estoma, estriás marcadas en el reborde poral que se interrumpen en el reborde externo del poro (más raramente) y se continúan luego en la cara externa de la oclusiva, o bien gránulos cuticulares distribuidos erráticamente. Son muy notables las oclusivas con pared externa estriada en *A. evecta* (Fig. 10, C y Fig. 4, A) aunque también se presentan estriás regulares en *A. angustifolia* (Fig. 10, A), *A. cartilagidens* (Fig. 10, B) y *A. pruinosa* (Fig. 10, E). En *A. angustifolia* y *A. cartilagidens* se destaca una especie de reborde externo del poro, que se colorea más intensamente. *Marattia alata* (Fig. 10, Q), *M. douglassii* (Fig. 10, S), *M. interposita* (Fig. 10, T) y *M. silvatica* (Fig. 10, X) también presentan algún tipo de estriamiento, confinado al borde poral o sobre éste y en la cara exter-

na de la oclusiva. En las especies observadas de *Danaea* las oclusivas suelen ser lisas. Ocasionalmente granulosidades de cera pueden aparecer en *D. cuspidata*, *D. excurrens* y *D. wendlandii*, y se vio filigrana esparcida en *D. elliptica*.

Las células oclusivas de *Christensenia* suelen ser lisas, excepto en *C. aesculifolia* subsp. *aesculifolia*, en cuyas láminas coexisten estomas con poros comunes levemente rebordeados y con oclusivas perpendiculares al eje longitudinal del estoma (Fig. 13, B), con estomas porociclocíticos, más abundantes, con poros muy grandes y oclusivas muy arqueadas, en las cuales nunca se han observado ornamentaciones de cara externa (Fig. 10, Y y Fig. 13, A).

3.3 La naturaleza química de las paredes externas de las células oclusivas

Al igual que las células epidérmicas circundantes, un corte transversal de las células oclusivas muestra una membrana cuticular con cutícula delgada y capa pectinada y pared celular de celulosa pura muy delgada.

En vista superficial, las áreas sobreelevadas, las piezas polares, las barras polares, el borde externo del poro y el borde epidérmico de las oclusivas se colorean intensamente, y las pruebas efectuadas indican una marcada concentración de pectinas entre la pared celulósica y la cutícula. El borde poral de las oclusivas no se colorea ante esas pruebas. Las áreas deprimidas no se colorean con los colorantes para pectinas pero sí ante las pruebas para celulosa.

Las piezas polares y el borde epidérmico de las oclusivas se colorean débilmente con colorantes básicos como la safranina pero dan siempre negativas las pruebas para lignina. El borde epidérmico en particular se colorea intensamente con Rojo de Rutenio y, en corte transversal corresponde al área de mayor respuesta de la capa pectinada a la coloración ("cu-

ñas cuticulares intercelulares" o "cuticular pegs", también presentes en las células epidérmicas).

4 - Ornamentaciones de las células anexas

Las células anexas pueden ser lisas o, más comúnmente, presentar algún tipo de ornamentación cuticular que puede coincidir o no con la que se observa en las epidérmicas adyacentes.

Las células anexas de *Christensenia* son siempre lisas. También aparecen lisas en los ejemplares observados de *D. alata*. Con filigrana reticulada irregular se encontraron en *D. elliptica* (Fig. 3, A) y *M. attenuata* (Fig. 6, B-C), en esta última especie cubiertas por abundante cera epicuticular, como en el resto de la epidermis. Anexas estriadas, con estrías variables, regulares, estriado granuloso irregular o estriado fino verrucoso se encontraron en *A. evecta* (Fig. 4, A), *A. pruinosa*, *D. nodosa*, *M. alata* y *M. interposita* (en *M. alata* se observaron también gránulos de cera en anexas, al azar). Anexas con pliegues irregulares, a veces ondulados, se presentaron en *A. cartilagidens* (Fig. 5, A), *D. cuspidata* (Fig. 4, B), *D. excurrens* (generalmente plegadas las polares y lisas las laterales en estomas tetracíticos, Fig. 14, A), *M. douglassii*, *M. excavata*, *M. fraxinea* (Fig. 10, U), *M. pellucida*, *M. raddii* y *M. wernerii*. Por lo general son más marcados los pliegues en anexas de posición polar. Anexas papilosas se encontraron en *D. wendlandii* (Fig. 10, N y Fig. 14, B). La distribución de las papilas es errática: pueden aparecer en una o en todas las células del primer ciclo de anexas (Fig. 15). Cuando se presenta una sola anexa papilosa, ésta puede tener cualquier posición en estomas tetracíticos o actinocíticos.

En estomas tetracíticos también suelen aparecer dos anexas laterales papilosas. El carácter es único hasta el momento para *Marattiales sensu lato* y, por lo que se ha visto, sólo se registró en *D. wendlandii*. La presencia de papilas es constante en los

ejemplares observados, pero la regularidad de su aparición en anexas es muy variable, habiéndose hallado estomas con anexas papilosas de diferentes posición en la misma área de la pinna. Esto será aclarado en lo futuro con la observación de mayor cantidad de ejemplares y de otras especies del género.

CONCLUSIONES

1 - Las convexidades de la pared externa de las células epidérmicas son típicas de los hipofilos, estando ausentes en los epifilos de las especies observadas. *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia* presentan elementos epidérmicos con diversos grados de convexidad en las paredes externas, desde domos bajos, aislados o en grupos de dos a varios por célula hasta domos sobresalientes (1-3 por célula en general), presentando por lo tanto epidermis subpapilosas. Papilas sensu stricto se presentan en venas principales y secundarias de esos 3 géneros y en láminas y venas de *Christensenia*. Las papilas de las frondes de especies y subespecies de *Christensenia* alternan en la epidermis con células no papilosas o con convexidades muy suaves en la pared externa y, a diferencia de los otros tres géneros, son de naturaleza glandular (Rolleri, 1993).

Si la teoría de la mejor absorción de la luz por medio de superficies onduladas (Haberlandt, 1965) es acertada, la epidermis subpapilosa hallada en pinnas de *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia* podría vincularse así con su hábitat natural. *Angiopteris* y *Marattia* son más notables en la expresión de este carácter que *Danaea*. Si la superficie con convexidades externas está a la vez ornamentada por diferentes plegamientos cuticulares, la hipótesis de la remoción rápida del agua de las superficies foliares podría ser complementaria de la anterior (Haberlandt, 1965).

Christensenia no estaría adaptada como los géneros mencionados, pero otros caracteres (presencia de estomas porociclo-

óticos y microproyecciones en células del mesófilo, Rolleri, 1993) estarían reflejando su propia respuesta fisiológica al medio (Rolleri, Deferrari y Lavallo, 1991 a, 1991 b).

2 - Las epidermis están cutinizadas. Las cutículas tienen espesores variables, desde 0,5 hasta 1,5 μm , pero pueden considerarse delgadas. En *Christensenia* se registraron los espesores menores; los mayores en *Angiopteris* y *Marattia*, y en *Danaea* los intermedios. Excepto en *Christensenia*, las cutículas presentan, en general, algún tipo de ornamentación. Tales ornamentaciones se clasificaron en tres tipos: filigrana, estrías y pliegues. El tipo de ornamentación es un carácter específico, pero no parece, por el momento, vinculante en el nivel genérico, salvo cuando se relaciona con las células oclusivas. En células epidérmicas parece variar al azar en los tres géneros.

3 - Se observó cera epicuticular abundante y variada en *Angiopteris* y *Marattia*. Es escasa y menos variada en *Danaea*. No se observó en *Christensenia*. La presencia de cera epicuticular es un carácter específico, así como los tipos hallados. Por el momento su valor diagnóstico es impreciso, aunque el hecho de que *Angiopteris* y *Marattia* presenten tipos similares podría esgrimirse como un carácter adicional en la afinidad entre estos dos géneros.

4 - La membrana cuticular se estudia y describe por primera vez para helechos eusporangiados. La cutícula presenta un espesor variable (0,5 - 1,5 μm) y aparece como una capa continua, lisa u ornamentada, que se dispone sobre una zona de hasta 12 μm de espesor, compuesta por celulosa fuertemente impregnada de sustancias pécticas. Aunque, ocasionalmente, en un área de no más de 1 - 1,5 μm por debajo de la cutícula propiamente dicha, se puede detectar una leve intususcepción lipídica, no hay capas cuticulares definidas. Esta membrana cuticular se dispone

sobre una pared celulósica de hasta 3,0 μm de espesor. La zona pectinada es la que presenta el mayor espesor relativo. El modelo descrito es común para *Angiopteris*, *Christensenia*, *Danaea* y *Marattia*.

Una pared periclinal externa en las células epidérmicas, con una composición como la descrita, podría estar funcionalmente relacionada con la mayor eficiencia en el intercambio de sustancias de pared, la producción de cera epicuticular, la transpiración cuticular y, en *Christensenia* y *Danaea*, con la actividad glandular de los tricomas presentes de las pinnas (Rolleri, Deferrari y Lavalle, 1991 a y Rolleri, 1993).

5 - Los caracteres de las células oclusivas parecen indicar que existe un tipo de estoma "marattiáceo" bastante generalizado, que vincula al menos tres géneros: *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*. Además del contorno marcadamente elíptico, este estoma se caracteriza por oclusivas con borde epidérmico y reborde de poro engrosados, pared de contacto de las mismas engrosada (barras o bastones polares) y presencia de piezas polares "en T" o de otros tipos.

Ocasionalmente faltan las barras polares, debido al notable engrosamiento de la pared poral de las oclusivas que contacta directamente con algún tipo de pieza polar. Hay áreas polares deprimidas en los estomas de los tres géneros mencionados.

En esas áreas la pared de la oclusiva se adelgaza y está formada por celulosa pura muy débilmente cutinizada, mientras que el resto de la pared es sobre elevada y su composición química responde a lo descrito en el punto 4. Si *Danaea cuspidata*, *D. excurrens* y *D. moritziana* son coespecíficas, como lo indicaría el análisis tipológico (Rolleri, m.s.), la morfología de las células oclusivas aparece como un aporte importante en cuanto a caracteres diagnósticos de la epidermis. Las tres especies muestran similar modelo epidérmico y mínimas variaciones, biológicamente esperables, en los caracteres de oclusivas. Otro tanto puede decirse de *D. nodosa* y *D. grandifolia*, también presumiblemente coespecíficas.

Christensenia no presenta el tipo de estoma "marattiáceo", aunque sus grandes células oclusivas semilunares presentan borde epidérmico engrosado parejamente, reborde poral indentado crenado y contactan entre sí por medio de una corta barra polar. Ni en la fase adulta ni en las etapas intermedias de este estoma se observaron áreas polares deprimidas.

6. La ornamentación cuticular en células oclusivas y anexas es un carácter variable. Su presencia parece específica y el tipo de ornamentación varía en especies de un mismo género. *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia* exhiben este carácter, que no se observó en *Christensenia*.

BIBLIOGRAFIA

Amelunxen, F., K. Morgenroth y T. Picksak, 1967. Untersuchungen an der Epidermis mit dem Stereoscan Elektronenmikroskop. Z. Pflanzenphysiol. 57: 79-95.

Baranova, M. A., 1972. Systematic anatomy of the leaf epidermis in the *Magnoliaceae* and some related families. Taxon 21: 447-469.

Barker, H. N., 1955. Adaptive gene substitution in *asmarian Eucalyptus*. I. Genes controlling the development of glaucousness. Evolution 9: 1-14.

Bongers, J. M., W. T. Jansen y M. G. M. van

Staveren, 1973. Epidermal variation and peculiarities in the *Winteraceae*, *Celastraceae* and *Icacinaeae*. Acta Bot. Neerl. 22: 250-251.

Brenner, W., 1900. Untersuchungen an einigen Fettpflanzen. Flora 87: 387-439.

Cameron, R. J., 1970. Light intensity and the growth of *Eucalyptus* seedlings. II. The effect of cuticular waxes on light absorption in leaves. Australian J. Bot. 18: 275-284.

D'Ambrogio de Argüeso, A., 1986. *Manual de Técnicas de Histología Vegetal*. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.

- Esau, K., 1953. *Plant Anatomy*. John Wiley, New York; Chapman and Hall, London.
- Fisher, D. A. y D. E. Bayer, 1972. Thin sections of plant cuticles demonstrating channels and wax platelets. *Canadian J. Bot.* 50: 1509-1511.
- Foster, A., 1934. The use of tannic acid and iron chloride for staining cell walls in meristematic tissues. *Stain Technol.* 9: 91-92.
- Grambast, N., 1954. Sur la structure et le développement de l'appareil stomatique dans le genre *Ficus*. *Rev. Gén. Bot.* 61: 607-631.
- Gurr, E., 1965. *The rational uses of dyes in biology*. Leonard Hill, London.
- Haberlandt, G., 1965. *Physiological Plant Anatomy*. Today and Tomorrow Book Agency, New Delhi.
- Hallan, N. D. y T. C. Chambers, 1970. The leaf waxes of genus *Eucalyptus* L'Heritier. *Australian J. Bot.* 18: 335-386; en: Cutler, D.F., K.L. Alvin y C.E. Price, *The Plant Cuticle*, *Limn. Soc. Symp. Series* 10:1-461. Academic Press.
- Holloway, P. J. 1982. Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview. pags. 1 - 32.
- Jahnicken, H., von, 1969. Revision zu Originalen Strukturbilder der Blätter aus der Lanzitzer und niederrheinischen Braunkohle. *Geologie* 18: 77-112.
- Johannsen, D.A., 1940. *Plant Microtechnique*. MacGraw Hill, New York.
- Jones, D. L., 1987. *Encyclopedia of Ferns*. Timber Press, Portland, Oregon.
- Martin, J. T. y R. F. Batt. 1958. Studies in plant cuticle. I. The waxy covering of leaves. *Ann. Appl. Biol.* 46: 375-392.
- y B. E. Juniper, 1970. *The cuticles of plants*. Edward Arnold, Edinburgh.
- McNair, J. B., 1929. The taxonomic and climatic distribution of oils, fats and waxes in plants. *Amer. J. Bot.* 16: 832-841.
- Mueller, L. E., P. H. Carr y W. E. Loomis, 1954. The submicroscopic structure of plant surfaces. *Amer. J. Bot.* 53: 593-600.
- Rolleri, C., 1993. Revision of genus *Christensenia*. *Amer. Fern J.* 83: 3 - 19.
- , A. M. Deferrari y M. Ciciarelli, 1987. Epidermis y estomatogénesis en *Martiacae* (Marattiales - Eusporangiopsida). *Revista Mus. La Plata (n.s.), Bot.* 14: 124-147.
- , A. M. Deferrari y M. C. Lavalle, 1991 a. Epidermal Morphology of the pinnae of *Angiopteris*, *Danaea* and *Marattia*. *Amer. Fern. J.* 81: 44-62.
- , A. M. Deferrari y M. C. Lavalle, 1991 b. Epidermis y estomas porocicloclíticos en *Christensenia cumingiana* Christ. *Revista Mus. La Plata* 14, n.s., Bot. 14: 149 - 166.
- Sargent, C., 1976. Studies of the ultrastructure and development of the plant cuticle. Thesis, University of London.
- Simón, L. E., 1991. Caracteres epidérmicos foliares en la sistemática de especies argentinas del género *Chenopodium* L. (*Chenopodiaceae*). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata.
- Sitte, P. y R. Rennie, 1963. Untersuchungen an cuticularen Zellwandschichten. *Pflanzl. J.* 60: 19 - 40.
- Solender, H., 1908. *Systematic Anatomy of the Dicotyledons*. 2 vols. Clarendon Press, London.
- Stace, C. A., 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot.* 4 (1): 1 - 78.
- , 1966. The use of epidermal characters in phylogenetic considerations. *New Phytol.* 65: 304 - 318.
- Stahl, E., 1896. Über bunte Laub-Blätter; ein Beitrag zur Pflanzenbiologie. II. *Ann. Jard. Bot. Buitzenborg* 13: 137 - 215.
- Thomas, D. A. y H. N. Barker, 1974. Studies on a cline of *Eucalyptus urnigera* from Tasmania. II. Reflection, transmission and absorption of radiation. *Australian J. Bot.* 22: 701 - 707.
- Venning, F. D. 1954. *Manual of Advanced Plant Microtechnique*. W. M. C. Brown, Dubuque, Iowa.
- Whitecross, M. I. y D. J. Armstrong, 1972. Environmental effects of epicuticular waxes in *Brassica napus* L. *Australian J. Bot.* 20: 87 - 95.
- Wilkinson, H. P., 1979. The Plant Surface (mainly leaf). pags. 97 - 165 en C. R. Metcalf y L. Chalk, *Anatomy of the Dicotyledons*, 2nd. ed., vol. I, Oxford University Press, London.

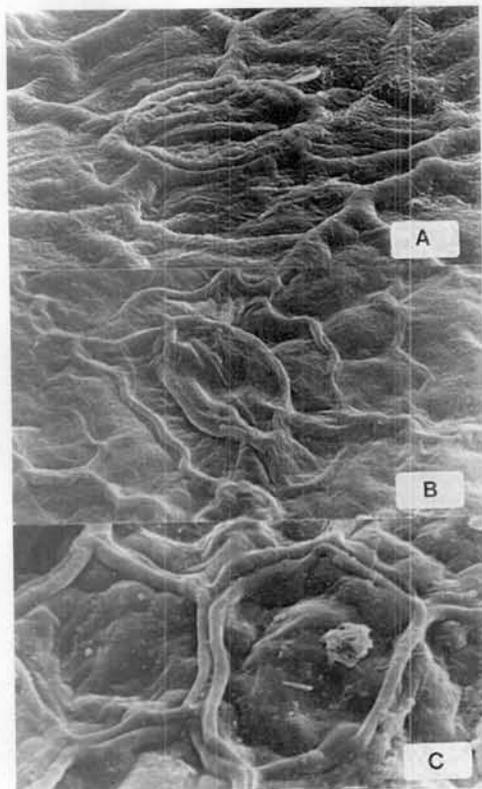
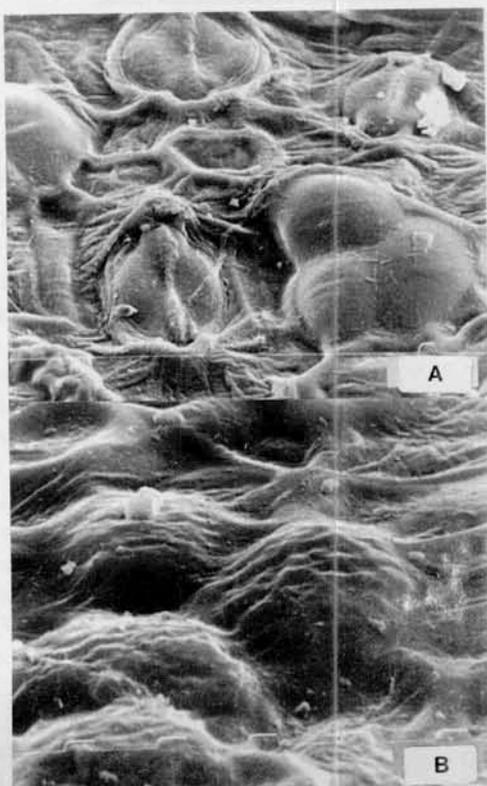


Fig. 1:
Convexidades
de la pared
periclinal
externa en
células
epidérmicas. A,
Marattia
attenuata, de
Nueva
Caledonia
(Bonati 653 SI);
B. *M. pellucida*,
de Is. Filipinas
(Ramos 1169
SI); C. *Danaea*
wendlandii de
Colombia
(Mickel 3525
LP).
A - C, x 2.000.

Fig. 2.
Convexidades
de la pared
periclinal
externa en
células
epidérmicas. A.
Angiopteris
cartilagidens, de
Is. Filipinas
(Merrill 928 SI);
B. *A. angustifolia*,
de Is. Filipinas
(Merrill 631 SI).
A - B, x 2.000.



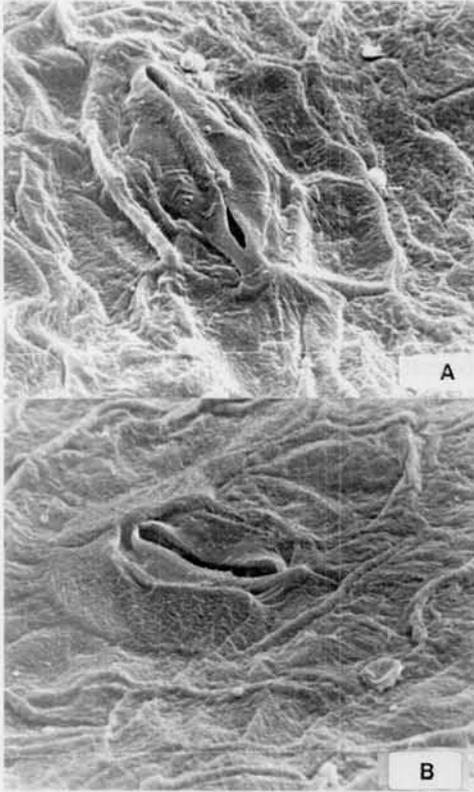


Fig. 3. Filigrana cuticular. A. *Danaea elliptica*, de Brasil (Anderson 10593 LP); B. *D. excurrens*, de Brasil (Hansch 224 LP). A - B, x 1500.

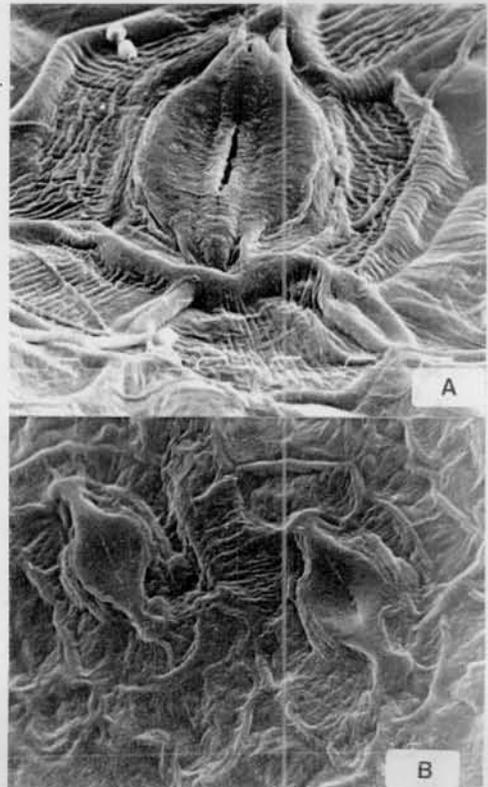


Fig. 4. Estrías cuticulares. A. *Angiopteris evecta*, de India (Mann 1046 SI); B. *Danaea cuspidata*, de Costa Rica (Mickel 3114 LP). A - B, x 1500.

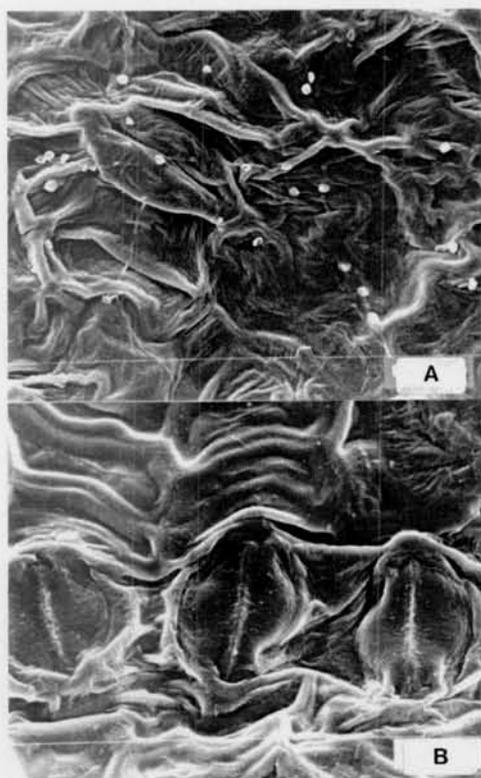
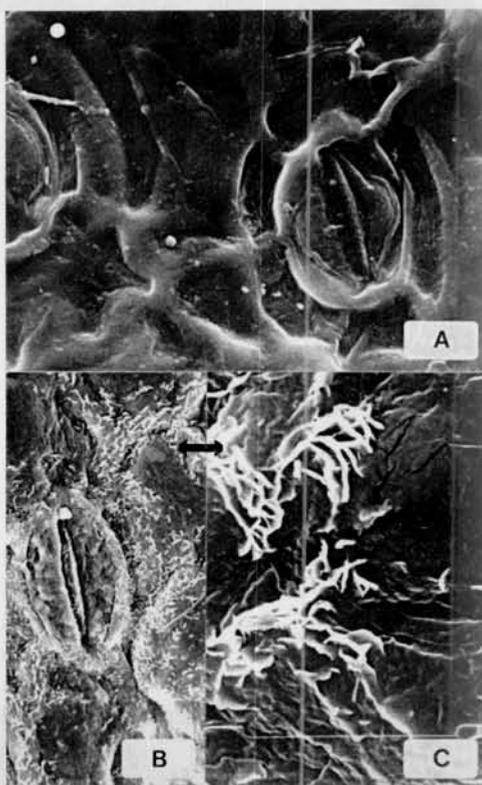


Fig. 5. Pliegues cuticulares. A. *Angiopteris cartilagidens*, de Is. Filipinas (Merrill 928 SI); B. *Marattia douglassii*, de Hawaii (Degener & Wiebke 3153 SI). A - B, x 1000.

Fig. 6. Cera epicuticular. A. *Angiopteris angustifolia*, de Is. Filipinas (Merrill 631 SI), en placas delgadas; B. *Marattia attenuata*, de Nueva Caledonia (Bonati 653 SI), en escamas; C. detalle de B. A - B, x 1.000; C, x 5.000.



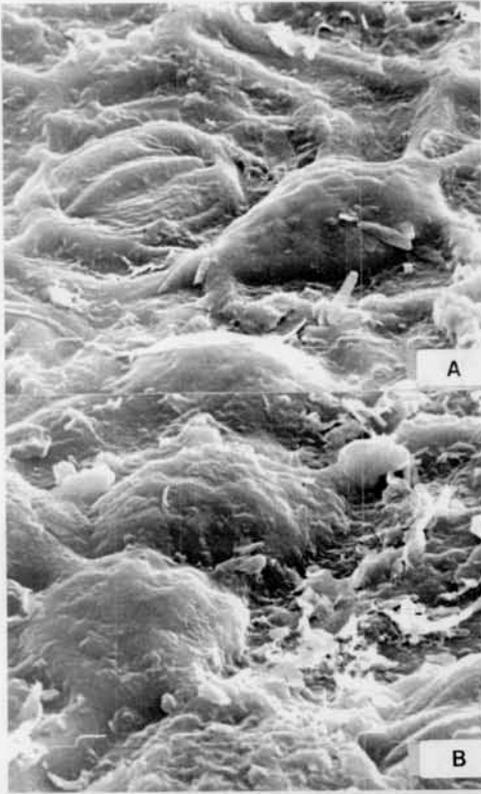


Fig. 7. Cera epicuticular en agregados mixtos. A - B, *Angiopteris pruinosa*, de Java (Mousset 59 SI). A - B, x 2.000.

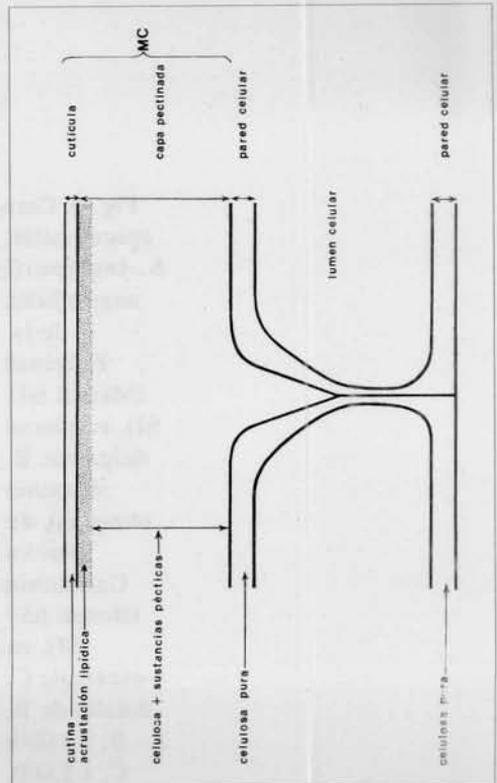


Fig. 8. Diagrama de las zonas de la membrana cuticular y pared celular en Marattiaceae s.l.

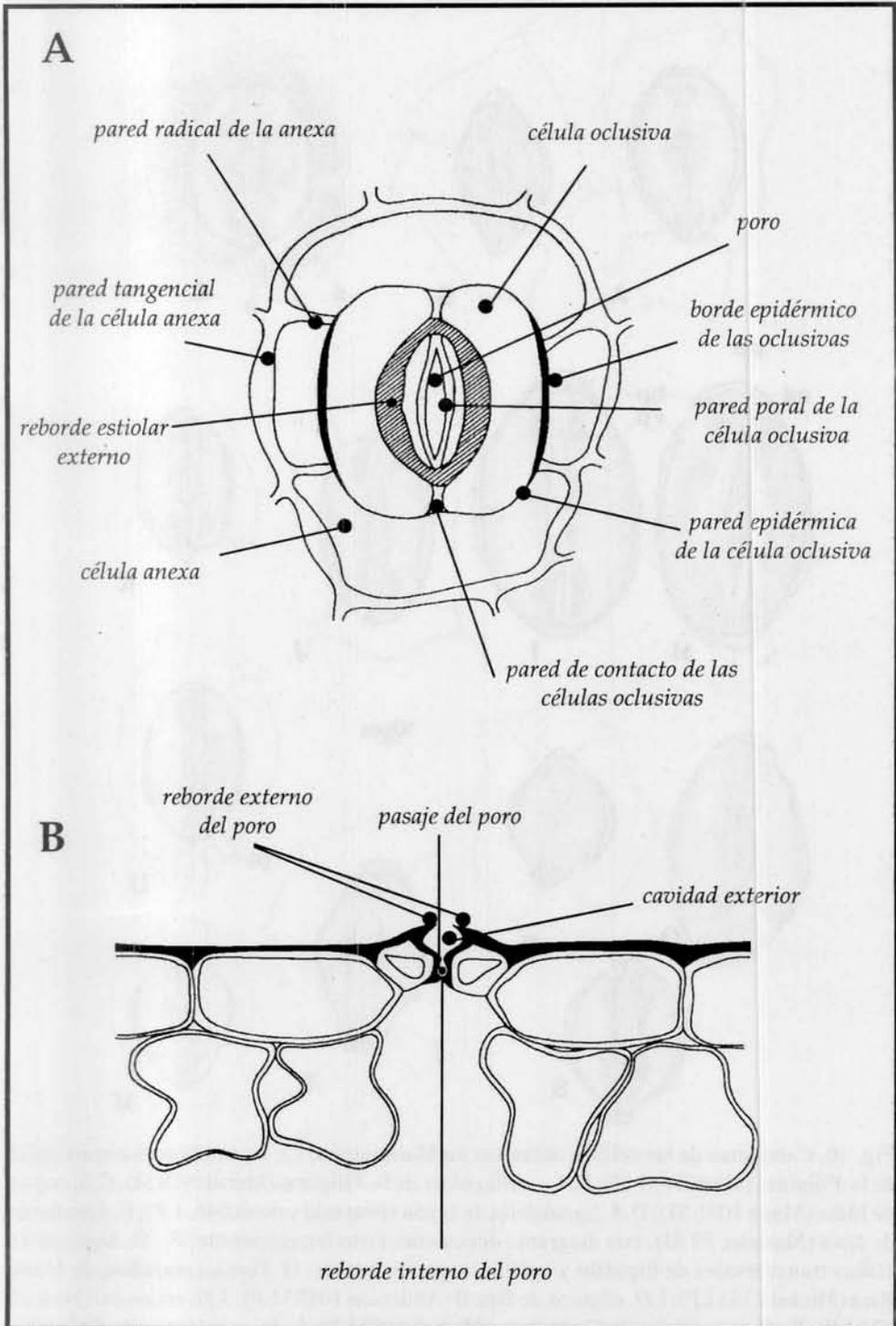


Fig. 9. Esquemas de los caracteres de las células oclusivas. A, en superficie; B, en corte transversal. Tomado de Simón (1991).

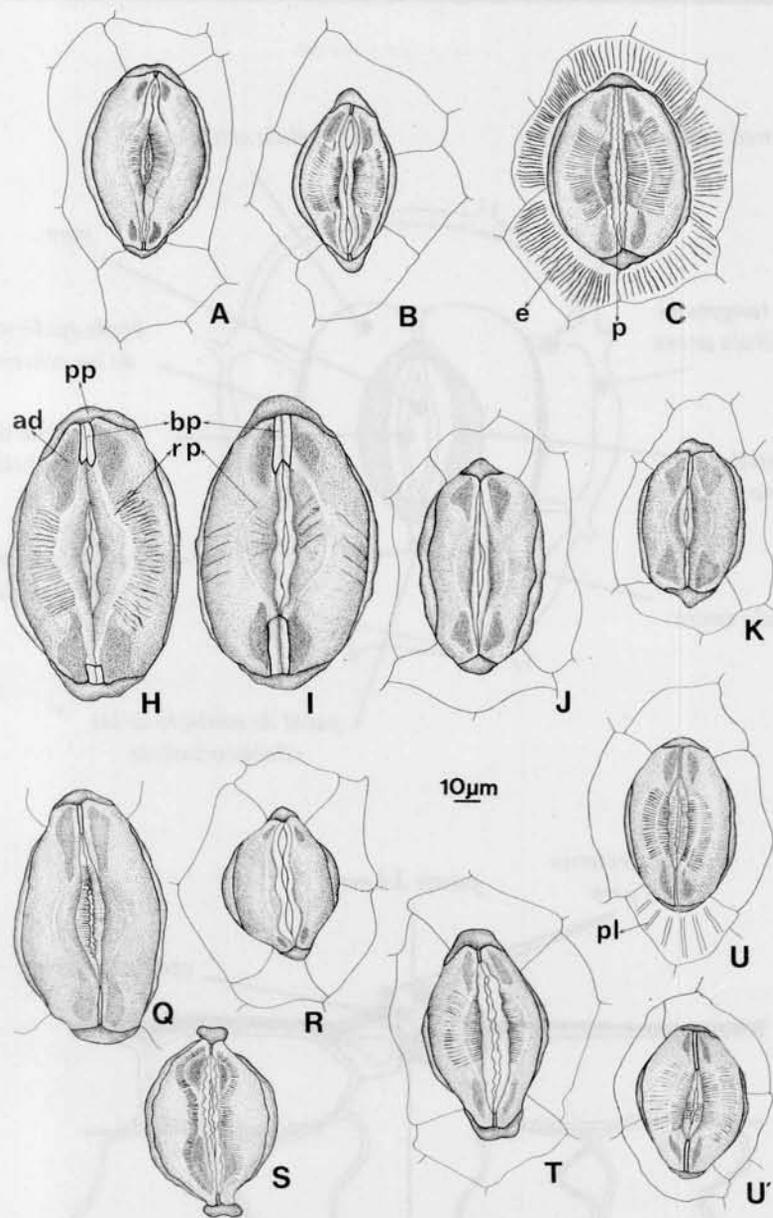
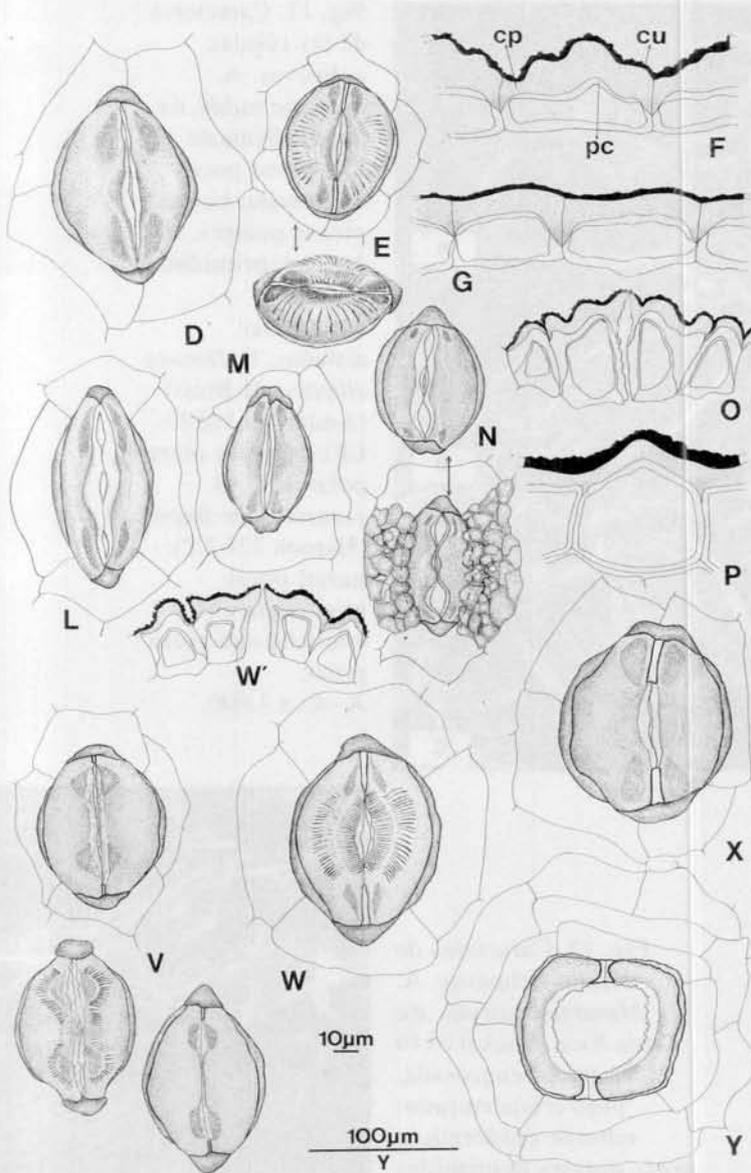


Fig. 10. Caracteres de las células oclusivas en Marattiaceae s.l. A, *Angiopteris angustigolia*, de Is. Filipinas (Merrill 631 SI); B, *A. cartilagensis*, de Is. Filipinas (Merrill 928 SI); C, *A. evecta*, de India (Mann 1046 SI); D, *A. lygodiifolia*, de Japón (Iwatsuki y otros 646, LP); E, *A. pruinosa*, de Java (Mousset 59 SI), con diagrama del estoma visto lateralmente; F - G, *Angiopteris*, cortes transversales de hipofilo y epifilo respectivamente; H, *Danaea cuspidata*, de Costa Rica (Mickel 2753 LP); I, *D. elliptica*, de Brasil (Anderson 10593 LP); J, *D. excurrens* (Hansch 224 LP); K, *D. grandifolia*, de Costa Rica (Mickel 3490 LP); L, *D. moritziana*, de Colombia (Lellinger & de la Sota 881 LP); M, *D. nodosa*, de Colombia (Lellinger & de la Sota 632 LP); N, *D. wendlandii*, de Colombia (Mickel 3526 LP). Estoma aislado y detalle con anexas laterales papilosas; O - P, *Danaea*, cortes transversales de estoma y célula epidérmica del hipofilo respectivamente; Q, *Marattia alata*, de Jamaica (Evans 2475 LP); R, *M. excavata*, de



Costa Rica (Mickel 3119 LP), *S. M. douglassii*, de Hawai (Degener y Wiebke 3153 SI); *T. M. interposita*, de Costa Rica (Mickel 3582 LP); *U. M. fraxinea*, de Tanzania (Schlieben 4711 LIL); estoma con pliegues en anexa foliar; U', *M. fraxinea* (igual procedencia); estoma estaurocítico sin pliegues en anexas polares; V, *M. pellucida*, de Is. Filipinas (Ramos 1169 SI); estomas con diferentes tipos de oclusivas en la misma área de la pinna; W, *M. raddii*, de Brasil (Schmalz 222 SI); W', corte transversal de estoma en W; X, *M. silvatica*, de Is. Filipinas (Merrill 929 SI); Y, *Chr. stenose aesculifolia* subsp. *aesculifolia*, de Is. Salomón (Braithwaite 4220 P). ad, áreas polares dep. (en punteado denso en todos los casos); be, borde epidérmico de las oclusivas; bp, barra polar; cp, capa pectinada de la membrana cuticular; cu, cutícula; e, estrías; p, pared poral; pc, pared celular; pl, pliegues; pp, pieza polar; rp, reborde poral de la oclusiva.

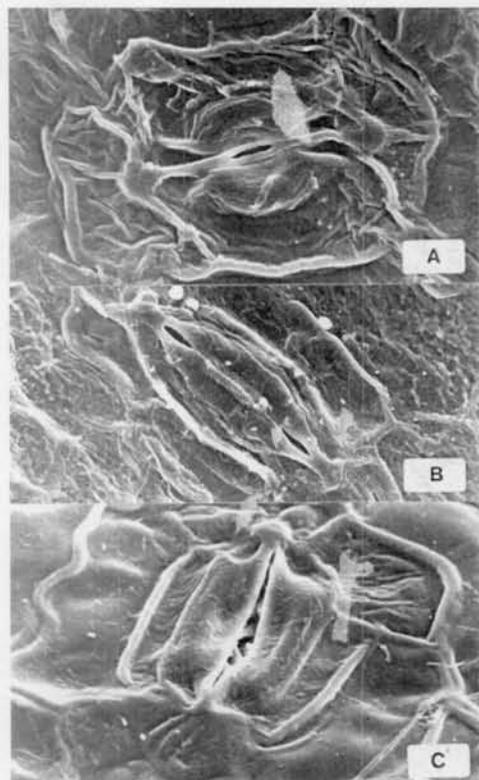
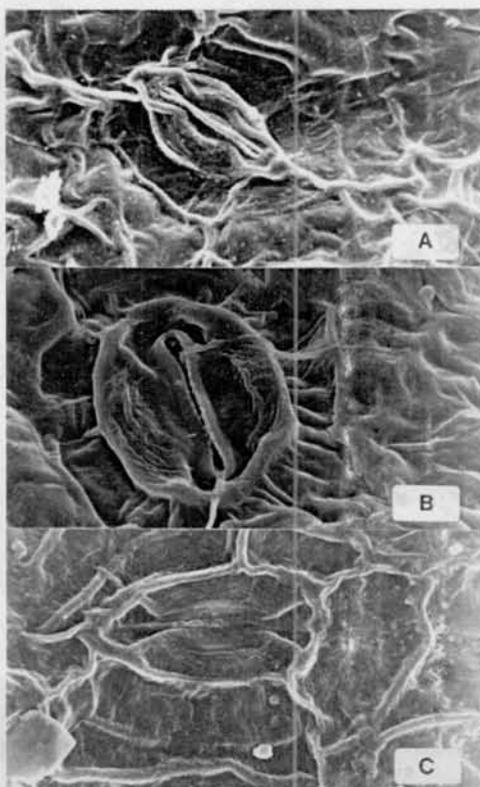


Fig. 11. Caracteres de las células oclusivas. A. *Marattia raddii*, de Brasil (Schmalz 222 SI): pared poral engrosada, barras y piezas polares, áreas deprimidas y gránulos cuticulares aislados; B. *Danaea elliptica*, de Brasil (Anderson 10593 LP): barras y piezas polares; C. *D. excurrens*, de Brasil (Hansch 224 LP): pared poral engrosada en contacto con pieza polar. A - C, x 1.000.

Fig. 12. Caracteres de células oclusivas. A. *Marattia excavata*, de Costa Rica (Mickel 3119 LP): pared engrosada, poro triaperturado; reborde epidérmico; áreas polares deprimidas y piezas plares; B. *M. wernerii*, de Nueva Guinea (Werner 49 SI): borde epidérmico sobreelevado, reborde poral y áreas deprimidas polares; C. *M. alata* de Jamaica (Evans 2475 LP): borde epidérmico; áreas polares deprimidas y gránulos cuticulares (en anexas). A - C, x 1.000.



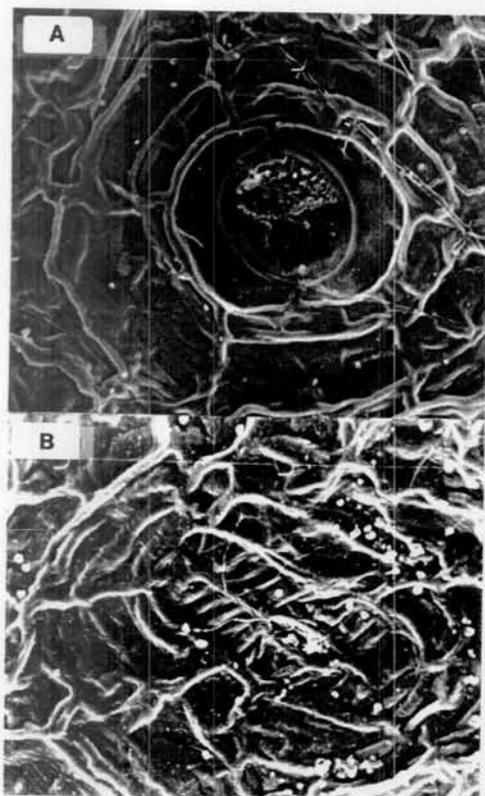


Fig. 13. Caracteres de células oclusivas. A, *Christensenia aesculifolia* subsp. *aesculifolia*, de Is. Salomón (Braithwaite 4220 P): borde epidérmico engrosado y barra polar corta; B, C. *aesculifolia* subsp. *aesculifolia*, de Assam (Buysman 2607 P): estoma porociclocítico cerrado, con pliegues en oclusivas. A - B, x 500.

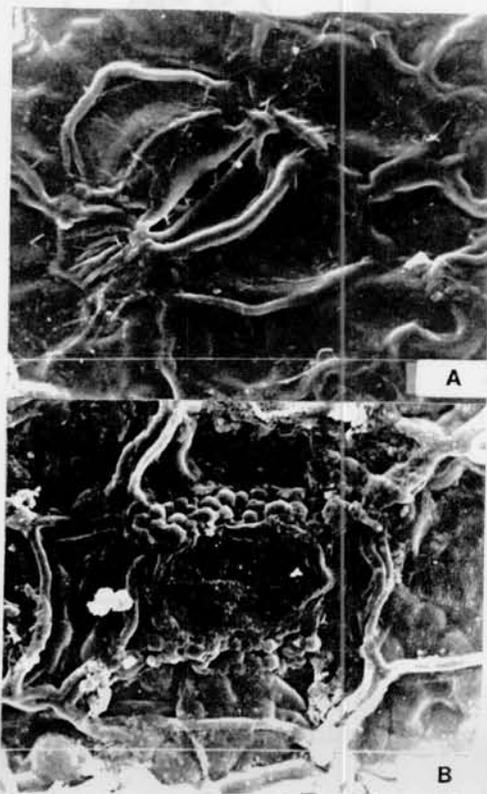


Fig. 14. Caracteres de células anexas. A, *Danaea excurrens*, de Brasil (Hansch 224 LP): pliegues en anexas polares; B, *D. wendlandii*, de Colombia (Mickel 3526 LP): anexas papilosas. A - B, x 1000.

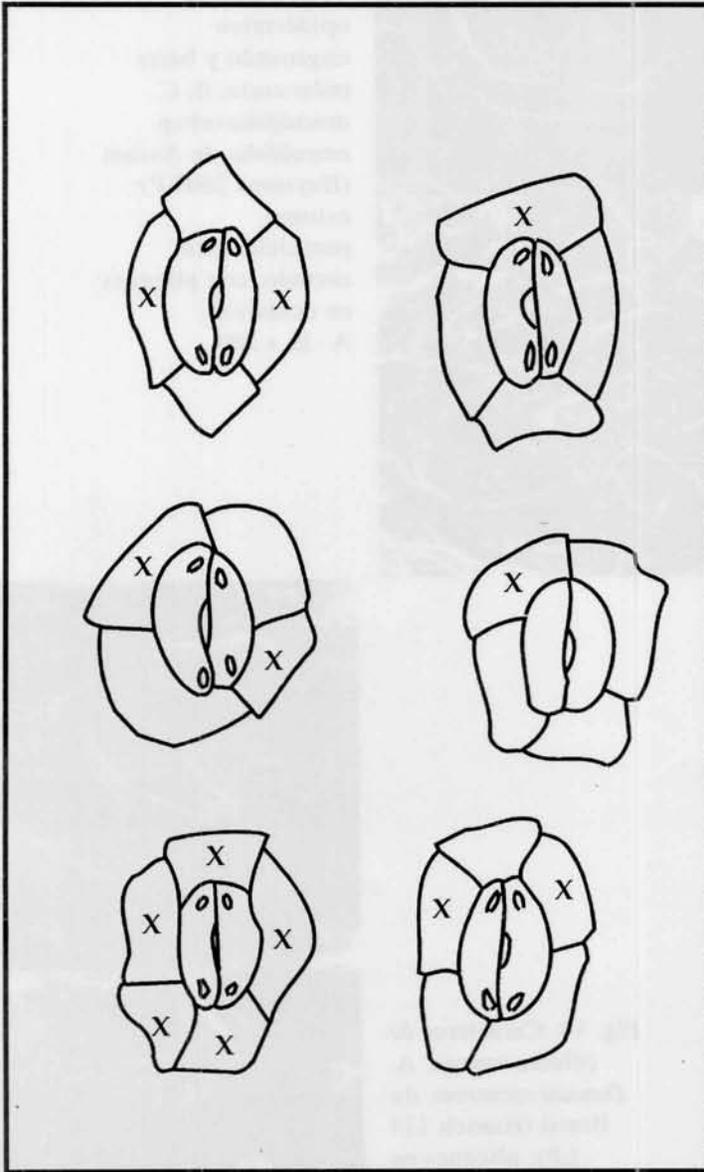


Fig. 15. Caracteres de células anexas: esquema que indica las posiciones de las anexas papilosas (x) en estomas tetracíticos, estaurocíticos y actinocíticos, de *D. wendlandii*.