

## Observaciones ultraestructurales en epidermis de hidróptéridos

por

Mayra B. Montiel L. \*

(Recibido para su publicación el 3 de noviembre de 1978)

**Abstract:** Scanning electron microscopy shows marked differences in epidermal cells and stomata of *Marsilea*, *Azolla* and *Salvinia*; the stomata are paracytic in the first and diacytic in the other two, supporting their segregation at the ordinal level. Studies of the sporocarp of *Marsilea* add interest to the gradal level of the genus, while contributing little to the cladal problem.

Los helechos leptosporangiados, heterospóricos, que algunos autores (Unger, 1850; Copeland, 1947) agrupan en la categoría de hidróptéridos, pertenecen a las familias Marsileaceae, Azollaceae y Salviniaceae. La morfología de sus esporofitos y su habitat acuático o anfibio, se alejan lo suficiente del patrón general del resto de los helechos homospóricos como para alojarlos en los órdenes Marsileales Nakai y Salviniiales Underwood, aunque embriológicamente no divergen de los Filicales.

En este trabajo se comunican algunas observaciones sobre la epidermis de *Azolla* y *Salvinia*, epidermis y esporocarpio de *Marsilea*, con el microscopio electrónico de barrido.

### MATERIAL Y METODOS

Las plantas de *Azolla caroliniana* Willd., y de *Salvinia auriculata* Aubl., fueron cultivadas en el Museo Nacional de Costa Rica, San José, por Luis Diego Gómez. Las muestras de *Marsilea deflexa* A. Br., fueron recogidas en la laguna Piñuelita, Parque Nacional Santa Rosa, Provincia de Guanacaste, por el Sr. Luis J. Poveda. Los ejemplares de herbario fueron depositados en el Herbario Nacional (CR).

El material se fijó en FAA al 50% durante ocho días, luego se deshidrató en una serie de etanol y se transfirió a una solución 1:1 de acetato de amilo puro. Las secciones se llevaron hasta el punto crítico de secado con CO<sub>2</sub> en una secadora Hitachi HCP-1. Se montó el material cortado en soportes de aluminio empleando una cinta de doble superficie adhesiva y pintura conductora de plata y se colocó en un cobertor iónico Eiko TB-3, donde se cubrió con una película con una película de oro. El microscopio electrónico de rastreo usado es un Hitachi HHS-2r. La fotografía se hizo en película Verichrome Pan Kodak VP-120.

---

\* Escuela de Zootecnia, Universidad de Costa Rica.

## RESULTADOS

**Morfología macroscópica:** En el Cuadro 1 se reseñan las principales características morfológicas de los tres géneros estudiados. Las especies costarricenses empleadas en esta investigación no presentan caracteres morfológicos de importancia que las distinguan de otras especies de esos géneros. De hecho, la homogeneidad morfológica de las especies de helechos heterósporos ha sido la causa de una taxonomía complicada e incierta.

**Anatomía:** La anatomía tradicional al microscopio de luz ha sido resumida por Bräun (1865), Campbell (1918), y Bower (1923) y particularmente por Sadebeck (1902), y Ogura (1938). Al microscopio electrónico de barrido, las preparaciones de epidermis han permitido apreciar algunas diferencias entre las especies de los tres géneros de hidrópteros estudiados, que no aparecen comunicadas en la literatura a mi disposición.

*Marsilea deflexa* A. Br. La epidermis foliar muestra una superficie glabra, de células irregularmente sinuosas, con cutícula rugosa (Fig. 1). Los estudios epidérmicos de Mickel y Votava (1971) describen con cierto detalle las características celulares y de los estomas, con énfasis en aspectos ecológicos y numéricos. Ni esos autores ni Gupta (1957) analizan la naturaleza y carácter parásito de los estomas, evidente en la Fig. 2.

La estructura de mayor interés filogenético y taxonómico de las especies de *Marsilea* es el esporocarpo, una estructura que ha recibido diversas interpretaciones (Gupta, 1957). En la Fig. 3 se muestra un corte longitudinal del esporocarpo de *M. deflexa* en el que se aprecia su naturaleza capsular y la estructuración de los diversos tejidos que lo conforman, de afuera hacia adentro: el indumento de tricomas, tricomidios y páleas, de origen epidérmico. Sigue un tejido de grandes aberturas, lignificado, que constituye el llamado tejido esclerótico que ha dado origen a la comparación del esporocarpo de *Marsilea* con una nuez o fruto de pericarpio endurecido, de plantas superiores. Inmediatamente, el tejido hiposclerótico, de naturaleza esponjosa, por el que discurren los haces vasculares que alimentan los soros. Los soros son elongados, distribuidos en forma alterna y bien delimitados por membranas o diafragmas. Los receptáculos, que algunas veces han recibido el apelativo de matrices, con justa razón, subtienden los megasporangios y los microsporangios, en número variable, durante las primeras etapas del desarrollo. La estructura observada concuerda con la descripción de DeBary (1877).

*Azolla caroliniana* Willd., Las hojas muestran un envés muy peculiar (Figs. 4,5), con células grandes cuyas paredes superiores están abultadas, mientras que la haz está formada por células poliédricas no abultadas y de cutícula relativamente lisa.

En la Fig. 6, se muestran los estomas, que son diacíticos.

*Salvinia auriculata* Aubl., presenta en el envés, y con una distribución regular, unas rosetas de células jibosas coronadas por una célula globosa, central (Fig. 7). La célula central carece de abertura, por lo tanto se interpreta aquí como una célula de función glandular. La haz es de células lisas similares a las del envés, no hay rosetas pero sí tricomas pluricelulares (Fig. 8) y en el material observado, gran cantidad de hifas.

CUADRO 1

*Morfología general de los géneros Marsilea, Azolla y Salvinia*

Características	<i>Marsilea</i>	<i>Azolla</i>	<i>Salvinia</i>
Tallo y Rizoma	Rizoma reptante, de ramificación pseudodicotómica. El tallo es de orientación dorsiventral. Plantas arraigadas al fondo limoso. Hojas flotantes la.gamente pecioladas.	Tallo más o menos compacto, reptante, de ramificación dicotómica o pinnada. Sistema radical verdadero que se origina en los nudos. Plantas flotantes.	Tallos reptantes, simples o ramificados. Sin raíces verdaderas sino una hoja modificada para la función radical. Plantas flotantes.
Hojas	Con un pecíolo cuya longitud es varias veces el diámetro de la lámina que subtiende. Lámina quadri-foliolada. Foliolos enteros o de márgenes variados.	Casi sésiles, de contorno globoso-espatulado, distribuidas alternadamente en dos hileras a lo largo del tallo. Láminas bilobuladas; uno de los lóbulos inmerso.	De forma orbículo-elipsoidal; en verticilos de tres de las cuales dos son laminares y flotantes, la tercera modificada por esqueletonización en sistema radical.
Indumento	Pelos pluricelulares articulados a las superficies por una célula corta, gruesa, basal.	Pelos pluricelulares simples escasos o ausentes	Pelos pluricelulares compuestos por un pie simple y un ápice de pelillos, en número variable, unidos apicalmente o libres.
Nervadura	Nerviación dicotómica, anastomosada para formar un retículo delimitado por una venilla marginal.	Retículo irregular	Retículo irregular.
Estructuras reproductivas	Un esporocarpo, pedicelado o no, adnato o libre en la porción basal del pecíolo.	Soros en pares, subtenidos por el lóbulo inmerso de la hoja. Indusio presente.	Soros en pares o tríos subtenidos por la hoja modificada, protegidos por indusios basifijos.
Habitat	Acuático o semiacuático	Acuático y semiacuático	Acuático
Ecología	Ambientes dulceacuícolas	Ambientes dulceacuícolas Simbiosis con <i>Anabaena</i> .	Cierta tolerancia a bajos niveles de salinidad.
Distribución	Cosmopolita	Cosmopolita	Cosmopolita.

## CONCLUSIONES

Los tejidos epidérmicos de las especies estudiadas muestran características definidas que las diferencian entre sí. Es de particular interés el tipo de estoma, paracítico en *Marsilea* y diacítico en los Salviniales, que apoya la separación de esos grupos a nivel de Orden.

Las estructuras reproductivas también apoyan ese criterio taxonómico a la vez que aportan un importante factor en consideraciones filogenéticas: la estructura del esporocarpo de *Marsilea* es diferente a la de los soros de *Azolla* y *Salvinia*, siendo estos últimos más cercanos al modelo de los helechos leptosporangiados, v.g. Schizaeaceae. De acuerdo con DeBary (1877), la estructura del esporocarpo de *Marsilea* se organiza en una empalizada de elementos escleróticos hipodérmicos delimitada, internamente, por una franja de espacios aeríferos y la vascularización, disposición confirmada en este estudio. Bräun (1871) describe franjas o grupos de células esclerenquimatosas poco diferenciadas en las hojas aéreas de varias especies de *Marsilea*, pero las células endurecidas están característicamente ausentes en los otros órganos de esas plantas que son herbáceas. Si el esporocarpo es una lámina modificada (Bower, 1923), es en la disposición y preponderancia del tejido esclerótico subdérmico y en el hiposclerótico, en donde se manifiestan mayores modificaciones estructurales que permiten interpretaciones filogenéticas, aunque ontogenéticamente (Bierhorst, 1971), la naturaleza laminar del esporocarpo no tenga sustento.

El papel filogenético de estos helechos altamente especializados no es aparente; su propia filogenia no nos es conocida, por la escasez de fósiles; si bien en el sentido *cladal* ofrecen un cuadro muy incompleto, su interés dentro de un enfoque *gradal* es muy grande, pues, aparte de otras posibles adaptaciones previas o posteriores, que no han alcanzado, han desarrollado una estructura protectora, útil en la reproducción en medio acuoso, comparable funcionalmente con el folículo de las angiospermas.

## RESUMEN

Se ilustra y discute brevemente algunas características epidérmicas de tres especies de helechos leptosporangiados, heterospóricos: *Marsilea deflexa* A. Br., *Azolla caroliniana* Willd., y *Salvinia auriculata* Aubl. Se comunica la naturaleza diacítica de los estomas de Salviniales y paracítica en Marsiliales, que justifican la separación de esos géneros, a nivel de Orden. Se describe la estructura del esporocarpo de *Marsilea* y discute su importancia filogenética.

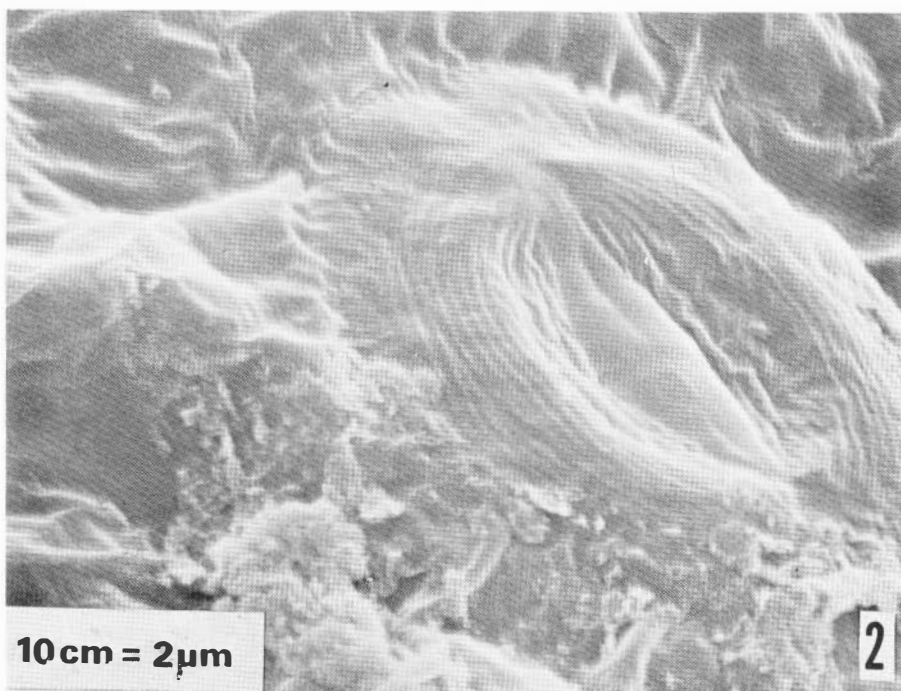
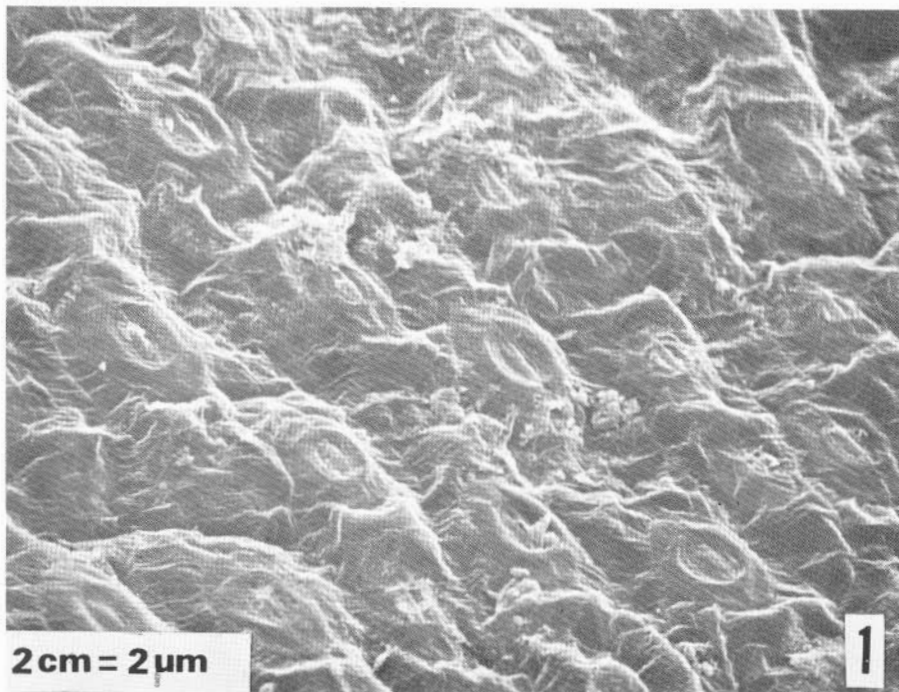
## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se llevó a cabo en la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica con financiamiento de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

---

Fig. 1. *Marsilea deflexa* A. Br., epidermis superficialmente glabra. Células sinuosas de cutícula rugosa y estomas paracíticos.

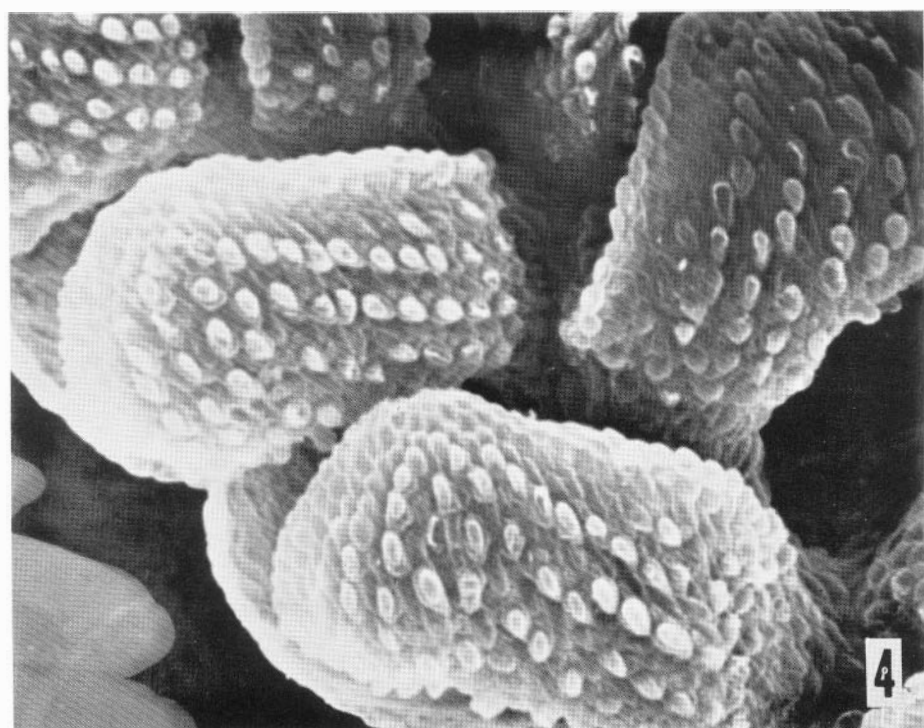
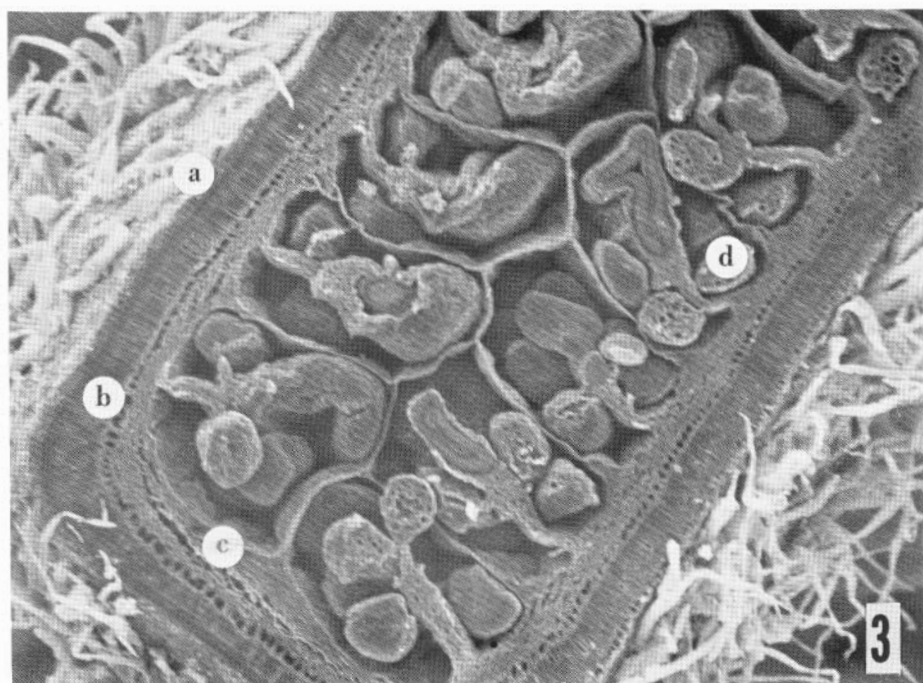
Fig. 2. Estoma paracítico de *Marsilea deflexa* A. Br.



## REFERENCIAS

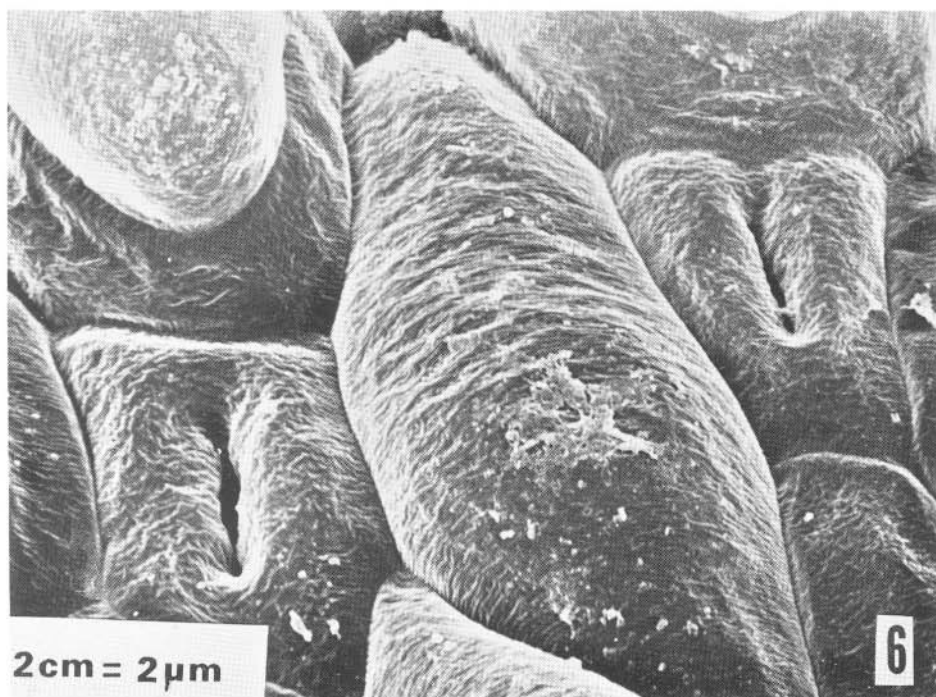
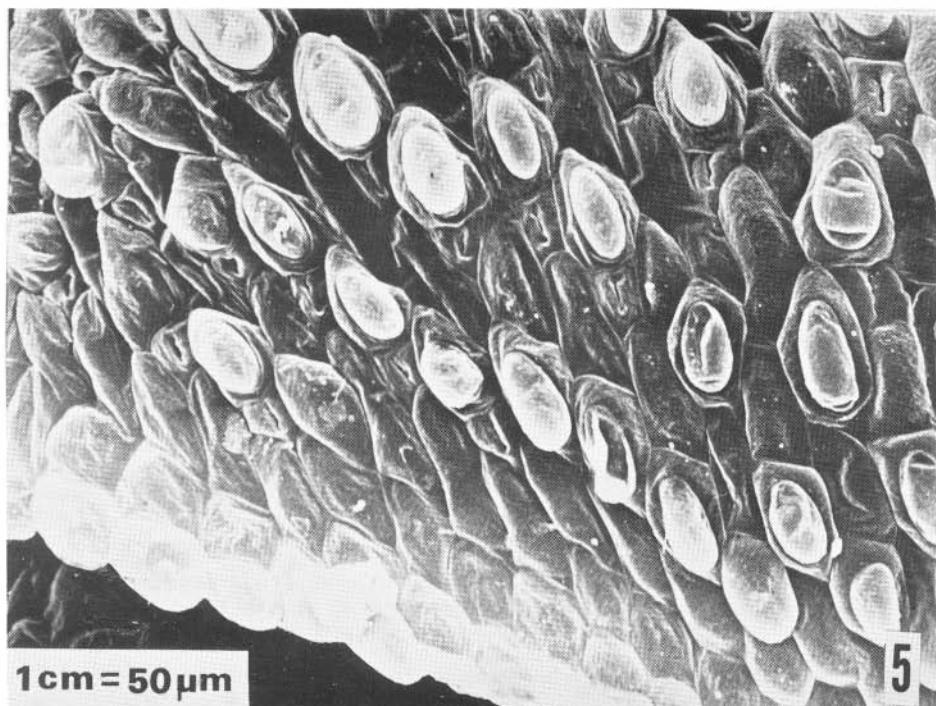
- Bierhorst, D.W.  
1971. Morphology of vascular plants. MacMillan, New York p. 121.
- Bower, F.O.  
1923. The Ferns. Cambridge University Press, 3 vols.
- Bräun, A.  
1865. Die Befruchtung und Entwicklung der Gattung *Marsilea*, beobachtet an den Nardoo-pflanzen. Mber. Akad. Berlin 575.
- Bräun, A.  
1871. Neuere Untersuchungen über die Gattungen *Marsilea* und *Pilularia*. Mber. Akad. Berlin 635.
- Campbell, D.H.  
1918. The structure and development of mosses and ferns. Hafner, New York 708 p.
- Copeland, E.B.  
1947. Genera Filicum. Chronica Botanica, Waltham, Mass. 247 p.
- DeBary, A.  
1877. Comparative anatomy of the phanerogams and ferns. Oxford University Press, Clarendon, p. 426.
- Gupta, K.M.  
1957. *Marsilea*. Council of Scientific and Industrial Research, New Dehli, Botanical Monographs 2, 111 p.
- Mickel, J.T. & F.V. Votava  
1971. Leaf epidermal studies in *Marsilea*. Amer. Fern. J. 61:101-109.
- Ogura, Y.  
1938. Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Pteridophyten. Borntraeger, Berlin 502 p.
- Sadebeck, A.  
1902. Hydropteridineae. In A. Engler & K. Prantl (eds.). Die Naturlichenpflanzenfamilien 1 (40).
- Unger, F.  
1850. Genera et Species plantarum fossilium. Junk, Vienna, 38 p.

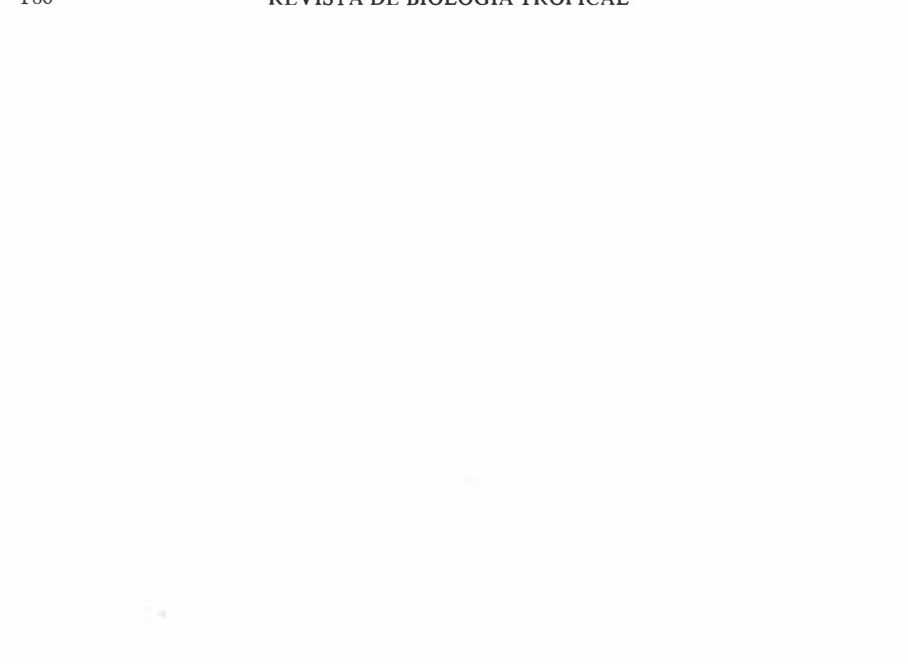
- Fig. 3. Sección de un corte longitudinal de esporocarpo de *Marsilea deflexa* mostrando : a, indumento, b, tejido esclerótico, c, tejido hiposclerótico y d, soro delimitado por su diafragma. Es evidente el carácter matricial del receptáculo.
- Fig. 4. Superficie adaxial de la hoja de *Azolla caroliniana* mostrando las células abultadas que corresponden a los pelos gutados descritos por los morfólogos. (200 X).



- Fig. 5.        Porción de la Fig. 4 muy ampliada. En algunas células se nota la articulación de los pelos gutados a las células epidérmicas abultadas.
- Fig. 6.        Estoma diacítico de *Azolla caroliniana* Willd., en el extremo superior izquierdo un pelo gutado.





- 
- Fig. 7. Rosetas coronadas por una célula central, esférica, en la superficie adaxial de *Salvinia auriculata* Ubl. Estas estructuras se parecen a los pelos gutados demostrados en *Azolla* y su función es posiblemente glandular.
- Fig. 8. Pelo multicelular en la superficie abaxial de *Salvinia auriculata* Aubl. con una célula basal o del pie muy evidente. Sobre la superficie numerosas hifas de hongos asociados.

