

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**ESTUDIO BIOSISTEMÁTICO DE LAS ESPECIES DE
POLYSTICHUM (DRYOPTERIDACEAE) DE CHILE Y
ARGENTINA AUSTRAL**

por

Biól. Rita Ema Morero

Directora: Gloria Estela Barboza

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal

(IMBIV, CONICET- UNC)



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

2016

Córdoba, Argentina

[Escriba texto]

[Escriba texto]

COMISIÓN ASESORA

Dr. José Luis Cabrera, Facultad de Ciencias Químicas, UNC.

Dr. Ariel Goldraj, Facultad de Ciencias Químicas, UNC

Dr. Raúl González Ittig, Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, UNC.


DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

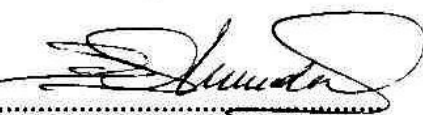
Lugar y fecha: Córdoba, 24/10/2016

Calificación: Sobresaliente

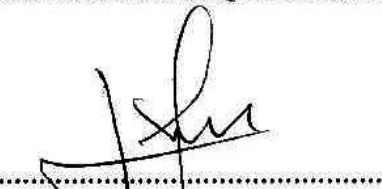
TRIBUNAL

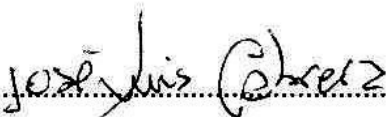
Firma: 

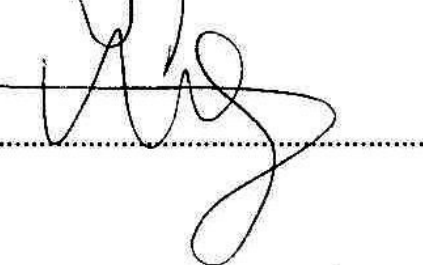
Aclaración: 

Firma: 

Aclaración: 

Firma: 

Aclaración: 

Firma: 

Aclaración: 

A mis padres, únicos

A mi familia, esenciales, incondicionales

Agradecimientos

A la Dra. Gloria E. Barboza, mi más profundo agradecimiento por haberme dado la oportunidad para realizar esta tesis, por su constante acompañamiento, dedicación y asesoramiento científico.

Al Dr. Andrea Cocucci por permitirme realizar este trabajo en el marco institucional e instalaciones del IMBIV.

Al Dr. Gabriel Bernardello y todo el equipo del Museo Botánico Córdoba, por su constante predisposición, apoyo y colaboración en este trabajo.

A los curadores y todo el equipo de los herbarios que he visitado y consultado.

A SECyT por su contribución para el desarrollo de este trabajo.

A los Dres. Raúl Gonzalez Ittig, Ariel Goldraij y José Luis Cabrera que, como miembros de la Comisión Asesora de esta tesis, me han brindado valiosos consejos y sugerencias.

Al Dr. David S. Barrington por su asesoramiento científico y por facilitar las instalaciones del Laboratorio Molecular del Departamento de Biología de las Plantas, Universidad de Vermont (Ee. Uu.) para realizar los estudios moleculares.

Al Dr. Franco Chiarini por sus enseñanzas, paciencia y acompañamiento.

Al Dr. Leonardo Amarilla por su afabilidad y excelente disposición para brindar sus conocimientos.

Al Dr. Juan Urdampilleta por su motivación para colaborar y participar en los proyectos que compartimos.

A los Dres. Natalia Moyetta, Laura Las Peñas, Natalia Moreno y Laura Stiefkens por sus consejos, asesoramiento y apoyo en el laboratorio.

Al Dr. Elías de la Sota, mi primer maestro en el estudio de los helechos.

Al Dr. Luis Ariza Espinar por sus valiosas sugerencias y constante estímulo.

A Chung-Xian Li por su camaradería y calidez humana y la inestimable ayuda brindada en el laboratorio de Biología Molecular de las Plantas (UVM, USA).

A los Dres. Michel Sundue y Monique McHenry por su asesoramiento y disposición para brindar sus conocimientos.

A la Biól. Adriana Pérez por su constante amabilidad y vocación para apoyar y facilitar los trabajos en el laboratorio

A la Dra. Alejandra Trenchi por su permanente disposición para colaborar en los estudios realizados.

Al Guardaparque Félix Vidoz, por su invaluable aporte de material vivo y fotos del grupo de estudio y al Dr. Javier Puntieri, por la recolección y envío de muestras.

A Claudia, por su generosidad, calidez y por el aporte constante de certeras sugerencias.

A mis compañeras y amigas de muchos años, Eva y Norma, por haberme iniciado y asesorado en el estudio de la morfología vegetal y especialmente por su cariño y constante apoyo.

A Rocío por el inagotable entusiasmo y disposición para brindar sus conocimientos y el siempre necesario apoyo afectivo y, a Virginia, por su particular calidez y sensibilidad.

A mi familia, que me acompañó, sostuvo y animó en todos estos años, y muy especialmente a:

Jorge, compañero incondicional,

Melisa, asistente full time en los viajes, colaboradora y consejera,

Javier, siempre atento para ayudar y brindar soluciones,

Emiliano, fuente inagotable de estimulantes pensamientos

Pamela, por el cariño y la calidez que me brindas...

Publicaciones derivadas de esta tesis

Condack JPS, Mchenry MA, Morero RE, Sylvestre LS & DS Barrington. 2013. ***Polystichum montevidense* demystified: molecular and morphologic data reveal a cohesive, widespread South American species.** *American Fern Journal* 103 (2): 118-130. DOI: <http://dx.doi.org/10.1640/0002-8444-103.2.118>

Morero R, Chiarini F, Barboza GE, Urdampilleta J & DS Barrington. 2015. **Cytological study of *Polystichum* (Dryopteridaceae) species from southern South America.** *Australian Journal of Botany* 63 (5) 403-414. DOI: 10.1071/BT14287.

Morero R, Giorgis MA, Condack JPS, Vidoz FF & GE Barboza. 2015. **Dos nuevas citas de *Polystichum* (Dryopteridaceae) para la flora Argentina.** *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*.50 (4). 631-637. ISSN 0373-580 X

Morero R, McHenry MA, Condack JPS & GE Barboza. 2016. **Typification and synonymy in *Polystichum* (Dryopteridaceae) from Chile and Argentina.** *PhytoKeys* 65: 91-105. DOI: 10.3897/phytokeys.65.8620

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL.....	10
Objetivos	15
CAPÍTULO I. Caracterización cromosómica.....	17
Introducción.....	18
Objetivos.....	22
Materiales y Métodos.....	22
1. Análisis de los cromosomas mitóticos.....	23
2. Análisis de las esporas y esporangios.....	24
3. Análisis de los cromosomas meióticos.....	24
4. Revisión de la literatura con datos citogenéticos de <i>Polystichum</i>	25
Resultados.....	27
1. Números cromosómicos y ploidía.....	27
2. Tamaño y morfología cromosómica.....	27
3. Tamaño de las esporas y nivel de ploidía.....	30
4. Comportamiento meiótico.....	31
5. Híbridos putativos.....	38
6. Datos citológicos de <i>Polystichum</i> en los centros de diversidad.....	42
Discusión.....	43
1. Consideraciones generales e implicancias de los cromosomas mitóticos.....	43
2. Inferencias sobre la biología reproductiva, hibridación y poliploidía.....	47
3. Algunas consideraciones sobre la ploidía en <i>Polystichum</i>	51
CAPÍTULO II. Variabilidad morfológica.....	55
Introducción.....	56
Objetivos.....	57
Materiales y métodos.....	57
1. Estudio de caracteres morfológicos y anatómicos.....	57
1.1. Preparaciones histológicas.....	58
1.2. Preparados semipermanentes.....	58
1.3. Extendidos de epidermis.....	58
1.4. Análisis del tamaño de los estomas y células epidérmicas.....	58
2. Análisis de caracteres morfométricos.....	59
2.1. Selección de caracteres.....	59
2.2. Análisis estadísticos.....	59
Resultados.....	61
1. Micro y macrocaracteres morfológicos.....	61
1.1. Rizoma.....	61
1.2. Fronde.....	65
1.2.1. Lámina.....	66
1.2.2. Pecíolo y Raquis.....	71
2. Caracteres morfométricos.....	80
2.1. Análisis de componentes principales.....	80

2.2. Análisis discriminantes.....	82
Discusión.....	86
1. Variabilidad y valor taxonómico de los caracteres morfológicos y anatómicos.....	86
1.1. Rizoma: tejidos no vasculares.....	86
1.2. Tejidos vasculares del rizoma y ejes foliares.....	87
1.3. Fronde: tejidos no vasculares.....	89
2. Caracteres morfométricos en la delimitación de los <i>Polystichum</i> Australes.....	93
CAPÍTULO III. Estudios evolutivos en <i>Polystichum</i> : Filogenía molecular, evolución de estados de caracteres morfológicos y reconstrucciones de áreas ancestrales..	95
Introducción.....	96
Objetivos.....	99
Materiales y métodos.....	100
1. Material utilizado.....	100
2. Extracción de ADN.....	100
3. Amplificación, secuenciamiento de los marcadores génicos y construcción de la matriz de datos.....	101
4. Análisis filogenético.....	104
5. Análisis de las tendencias de cambio en los estados de carácter morfológico en <i>Polystichum</i>	104
6. Reconstrucciones de las áreas ancestrales de distribución.....	105
Resultados.....	106
1. Descripción de los marcadores.....	106
2. Estudio filogenético.....	107
3. Evolución de estados de caracteres morfológicos y reconstrucción de áreas ancestrales.....	109
Discusión.....	114
1. Relaciones filogenéticas en <i>Polystichum</i>	114
2. Biogeografía histórica del clado Austral.....	118
CAPÍTULO IV. Taxonomía y delimitación de las especies.....	121
Introducción.....	122
Objetivos.....	125
Materiales y métodos.....	125
1. Exploración de las poblaciones y recolección de los especímenes.....	125
2. Análisis de la distribución geográfica de los taxones.....	126
3. Resolución de problemas nomenclaturales.....	126
Resultados.....	128
1. El género <i>Polystichum</i>	128
2. Clave de las especies de <i>Polystichum</i> Australes.....	129
Discusión.....	169
CONCLUSIONES GENERALES.....	173
1. Caracterización citológica.....	174

2. Variabilidad morfológica.....	175
3. Inferencias evolutivas.....	175
4. Delimitación de las especies de <i>Polystichum</i> Australes.....	177
PROYECCIONES.....	177
BIBLIOGRAFÍA.....	179
APÉNDICES	
Apéndice 1.....	209
Apéndice 2.....	210
Apéndice 3.....	230
Apéndice 4.....	234
Apéndice 5.....	236
Apéndice 6.....	238

RESUMEN

Polystichum Roth (Dryopteridaceae) es un género de helechos taxonómicamente conflictivo. Las especies Australes que habitan Chile y el sur de Argentina (grupo Austral de *Polystichum*), no escapan a esta regla; consecuentemente, la posición y validez de varias entidades era incierta. Las especies Australes nunca habían sido estudiadas en un contexto filogenético, por lo que las relaciones evolutivas entre estas especies eran desconocidas, como así también, las relaciones de este grupo con otros *Polystichum* del mundo. Dado estos antecedentes, se decidió abordar el estudio multidisciplinario de los *Polystichum* Australes, analizando la citología, la anatomía, la morfología y la filogenia molecular a fin de contribuir a mejorar su taxonomía, probar su monofilia y evaluar las relaciones de parentesco con otros grupos de *Polystichum* del mundo.

Los resultados de este trabajo indican que las especies se caracterizan por ser poliploides: *P. andinum*, *P. chilense*, *P. multifidum*, *P. plicatum* y *P. tetragonum* son tetraploides ($2n=4x=164$), en tanto que, el único octoploide es *P. subintegerrimum* ($2n=8x=ca.328$). Dentro de cada nivel de ploidía, el tamaño de las esporas resultó un carácter diagnóstico para el reconocimiento de las especies; en general, cuanto mayor es el nivel de ploidía, mayor es el tamaño de las esporas. Asimismo, todas las especies presentaron 64 esporas por esporangio y se observaron bivalentes en las configuraciones meióticas, lo que sugiere que serían aloploiploides antiguos con reproducción sexual normal. La ausencia de especies diploides, patrón también observado en otros grupos de *Polystichum* del hemisferio sur (Africa, Australia y Nueva Zelanda), sugiere que serían paleopoliploides, derivados de eventos de poliploidización antiguos que produjeron su diversidad actual. Los híbridos son frecuentes en el género y también han sido detectados en los *Polystichum* Australes, reportándose dos híbridos putativos, uno tetraploide ($2n=4x=164$) y otro hexaploide ($2n=6x=ca.240$).

Desde el punto de vista morfo-anatómico, se definió un conjunto de caracteres anatómicos y morfológicos (cuali- y cuantitativos) que resultaron ser muy útiles para la

identificación de las especies, particularmente la presencia/ausencia de espínulas en los márgenes foliares, el largo y posición de las pinnas basales, el número de pares de pinnas y, el número de pinnas soríferas, la vascularización de los pecíolos y el indumento en general (pelos y escamas).

Los resultados obtenidos en los estudios filogenéticos recuperan a los *Polystichum* de Chile y Argentina austral (= Clado Austral) como un grupo monofilético y a los *Polystichum* de Australia como el clado hermano; a su vez, las especies de Nueva Zelanda constituyen el clado hermano de ambos. La diversificación del grupo Austral habría ocurrido en el área geográfica que actualmente ocupa y, en este contexto, *P. andinum* habría sido el primero en divergir del clado; las especies restantes pertenecerían a dos linajes diferentes. El ancestro putativo de este clado Austral habría habitado en la misma área geográfica ocupada actualmente por sus especies, mientras que, el ancestro común del clado Austral + el clado de Australia habrían habitado tanto en Australia como en el extremo sur de Sudamérica. La vicarianza explicaría con mayor probabilidad su distribución geográfica, aunque la dispersión a larga distancia no debería ser descartada. Las especies de *Polystichum* que habitan los Andes del Norte y Centrales (=Clado Andino), no están relacionadas filogenéticamente con las Australes, por lo tanto, las diez especies de *Polystichum* que crecen en Argentina tendrían dos orígenes evolutivos diferentes.

Por último, se presenta el tratamiento taxonómico para el grupo, aceptándose siete especies de *Polystichum* de Chile y el sur de la Argentina; en este tratamiento se brinda una clave actualizada de los taxones, se describe e ilustra cada una de las especies, se provee su área de distribución, se documenta su sinonimia y se tipifican 12 binomios (designación de 11 lectotipos y un neotipo). Además, se reporta por primera vez para la Argentina la presencia de *Polystichum subintegerrimum* (Hook. & Arn.) R. Rodr., antes considerada endémica de Chile.

SUMMARY

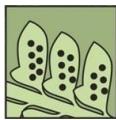
Polystichum Roth (Dryopteridaceae) is a genus of ferns taxonomically controversial. The austral South American species that inhabit Chile and southern Argentina (Austral *Polystichum* group), did not escape to this rule; consequently, the position and validity of various entities were uncertain. The phylogenetic relationships within the Austral *Polystichum* species were unknown as it was also with other “polystichums” of the world. Austral *Polystichum* species have never been studied in a phylogenetic context. According with this background, a multidisciplinary study of this group, analyzing cytology, anatomy, morphology and molecular phylogeny, has been carried out in order to improve its taxonomy.

The results of this study indicate that all the species are polyploids: *P. andinum*, *P. chilense*, *P. multifidum*, *P. plicatum*, and *P. tetragonum* are tetraploids ($2n=4x=164$) while *P. subintegerrimum* is the only octoploid species ($2n=8x=ca. 328$). Within each ploidy level, spore size was useful to distinguish the species; in general, the higher ploidy level, the greater size of the spores. In addition, all species have 64 spores per sporangium while bivalents were found in the meiotic configurations, suggesting that they would be ancient allopolyploids with normal sexual reproduction. The absence of diploid species in the Austral *Polystichum* group, a pattern also observed in other groups of *Polystichum* from the southern hemisphere (Africa, Australia, and New Zealand), suggests that a relatively ancient set of polyploidization events yielded its current diversity. Two putative hybrids were also detected, one was tetraploid and the other was hexaploid ($2n= 6x=ca. 240$).

From a morpho-anatomical point of view, several anatomical and morphological characters (qualitative and quantitative) resulted useful for identifying the species. Among the most diagnostic features are: the spinules on leaf margins, the length and position of basal pinnae, the number of pinnae, the number of fertile pinnae, the petiole vascularization, and the indumentum (hairs and scales).

Based on a molecular analysis, *Polystichum* from Chile and southern Argentina (= Clade Austral) was recovered as monophyletic and sister to the Australian clade; the New Zealand clade is sister to both of them. Austral *Polystichum* lineage diversification would have occurred in the same geographical area currently occupied by its species and, in this context, the first divergent species would have been *P. andinum*, and subsequently two other lineages diverged comprising the remaining Austral species. The putative ancestor of this Austral clade would have also inhabited in the same geographic area, while the common ancestor of the Austral clade + Australian clade would have inhabited in Australia and in the southern South America. The vicariance would explain likely the geographic distribution pattern, although the long-distance dispersal event should not be ruled out. Andean *Polystichum* species would not be phylogenetically close related with the Austral *Polystichum* species; therefore, all species of *Polystichum* growing in Argentina would have two different evolutionary origins.

Finally, a taxonomic treatment for the group has been done. As a result, seven species of *Polystichum* from Chile and southern Argentina are accepted. Besides, an updated key to recognize all the taxa is presented, as well as a detailed description, illustrations, and geographical distribution for each species. Synonymy and typifications (11 lectotypifications and one neotypification) are also documented. Also, a new record: *Polystichum subintegerrimum* (Hook. & Arn.) R. Rodr., is reported for the Argentina fern-flora.



INTRODUCCIÓN GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los helechos constituyen un hito evolutivo en la historia de la vida de las plantas y junto con las licofitas, fueron los primeros linajes de vegetales con vasos de conducción. A pesar de representar hoy un pequeño porcentaje de la flora vascular del mundo (ca. 3,5%, Smith et al. 2006, Christenhusz et al. 2011), fueron las plantas dominantes por más de 60 millones años, durante el Carbonífero, periodo al que se conoce también como “la edad de los helechos”.

Los helechos, también denominados “monilofitas” (Pryer et al. 2001) constituyen el clado hermano de las espermatófitas (plantas con semillas), de las que se diferencian por la ausencia de flores, frutos y semillas y por la presencia de dos generaciones de vida independiente (gametófito y esporófito) en su ciclo biológico (Pryer et al. 2001, 2004).

Dryopteridaceae (Subclase Polypodiidae, Orden Polypodiales; Chase & Reveal 2009) es una de las familias más importantes de helechos; comprende alrededor de 2100 especies (Zhang & Barrington 2013) que se distribuyen principalmente en los trópicos y regiones templadas del mundo. La mayor diversidad se encuentra en el este de Asia (en *Dryopteris* Adans. y *Polystichum* Roth) y en América [en *Ctenitis* (C.Chr.) C.Chr. y *Elaphoglossum* Schott ex J.Sm.]. Entre los géneros más grandes se pueden mencionar a *Ctenitis*, *Elaphoglossum*, *Dryopteris* y *Polystichum* (Smith et al. 2006), sólo ellos reúnen ca. del 80% de las especies de Driopteridáceas. Los miembros de esta familia se caracterizan por poseer frondes monomórficas o dimórficas, típicamente escamosas; pecíolos con 3 o más haces vasculares reunidos en un anillo (estela: dictiostela); soros usualmente discretos, redondeados, indusiados o exindusiados; esporas monoletes y número básico de cromosomas $x= 41-(40)$ (Lu et al. 2006 a,b).

La sistemática de Dryopteridaceae ha sido muy controversial; estudios recientes en filogenia molecular han esclarecido en gran medida la delimitación monofilética de la familia, además de la circunscripción de sus géneros y las relaciones entre ellos (Smith et

al. 2006, Li & Lu 2006 a,b, Liu et al. 2007). En la actualidad, se divide en dos subfamilias: Dryopteridoideae que congrega alrededor de 17 géneros, entre ellos a *Polystichum* y *Dryopteris*, y Elaphoglossoideae, que comprende ca. 14 géneros (*Bolbitis*, *Elaphoglossum*, *Megalastrum* y *Rumohra*, entre otros) (Smith et al. 2006, Christenhusz et al. 2011). Para la Argentina, se han citado 13 géneros con 31 especies (Ponce & Salino 2008).

Polystichum Roth es uno de los 3 géneros más grandes de helechos del mundo, comprende alrededor de 360-500 especies, siendo el este de Asia el mayor centro de diversidad y endemismos (Zhang & Barrington 2013). Se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo, en regiones templadas, templado-frías y en las áreas montañosas tropicales superiores a los 1000 m s.n.m. Se trata de un género taxonómicamente muy complejo, caracterizado por la convergencia morfológica y la elevada variabilidad intraespecífica (Kessler et al. 2005, Barrington 2011). Asimismo, la hibridación frecuente, la poliploidía (especialmente alopoliploidía) y la apomixis dificultan aún más la delimitación taxonómica de sus especies (Little & Barrington 2003, Barrington 2011).

Los miembros de *Polystichum* pueden ser reconocidos por sus rizomas usualmente erectos (menos frecuentemente ascendentes o decumbentes), con una estela dictiostélica; sus frondes monomórficas; rizomas y ejes foliares escamosos, generalmente sin (o raros) pelos glandulares; láminas 1-3-pinnadas; pinnas/pínnulas con la base estrecha, asimétrica, con una aurícula en el borde superior y espínulas en los márgenes de desarrollo variable (raro ausentes); nerviación libre, anadrómica; soros 1-2-seriados de posición medial, exindusiados o cubiertos por un indusio redondeado y peltado (Barrington 1995, 2011) (Fig. 1).

Atendiendo a la riqueza de especies y número de endemismos de *Polystichum*, pueden definirse 14 centros geográficos en el mundo (Fig. 2, Barrington & Driscoll 2005), de los cuales los tres más importantes se localizan en el este de Asia, desde Japón hasta la Cordillera del Himalaya; siendo China el país donde el género está más diversamente

representado con ca. 200 taxones (Zhang & Barrington 2013). Otros centros de diversidad importantes se encuentran en América (6 centros con ca. 90 taxones).

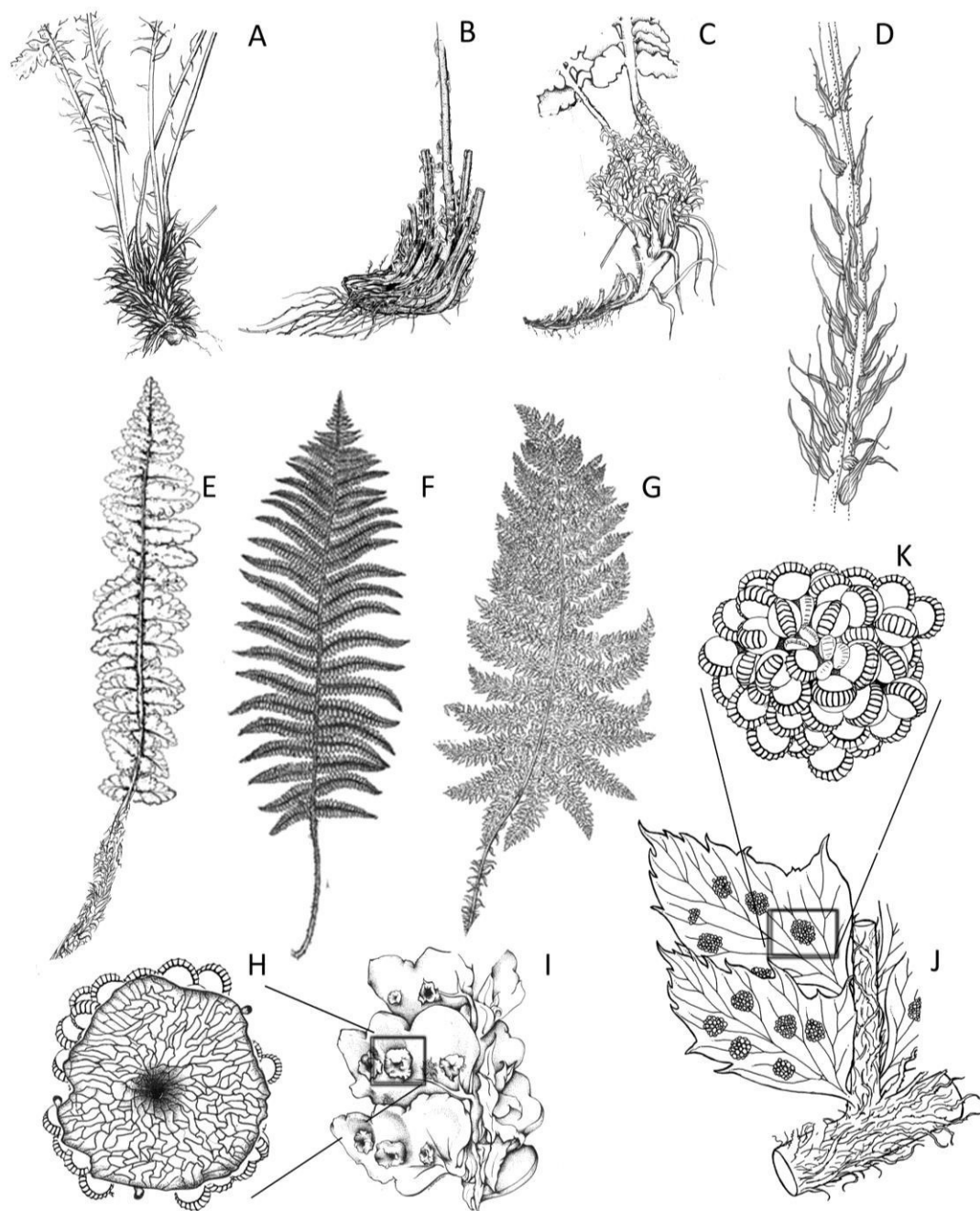


Fig. 1. Caracteres diagnósticos de *Polystichum*. A. Rizoma erecto. B. Rizoma ascendente. C. Rizoma decumbente. D. Pecíolo escamoso. E. Lámina 1-pinnada. F. Lámina 2-pinnada. G. Lámina 3-pinnada. H. Vista superior de un soro cubierto por el indusio, indicado en I, J. Últimos segmentos, obsérvese en éstos la base asimétrica y la aurícula acrostíquica más desarrollada. I: segmentos sin espínulas y con los soros indusiados.

J. Segmentos mostrando la nerviación, el margen con espínulas y los soros exindusiados. K. Detalle de un soro sin indusio, señalado en J.

Por otra parte, Sudamérica alberga ca. 40 especies de *Polystichum* (43% del total de las especies del continente) que pertenecen a tres centros de diversidad: 1) *Andino* [=“Andino exindusiado” de McHenry & Barrington (2014)], comprende la región de los Andes desde el norte de Ecuador hasta el Noroeste de Argentina, con 25 especies; el *Centro Brasileiro* con nueve especies (Condack 2012, Condack et al. 2013) y el *Austral* [“Grupo Chileno” según Barrington & Driscoll (2005)], con nueve taxones endémicos que habitan Chile y el sur de Argentina.

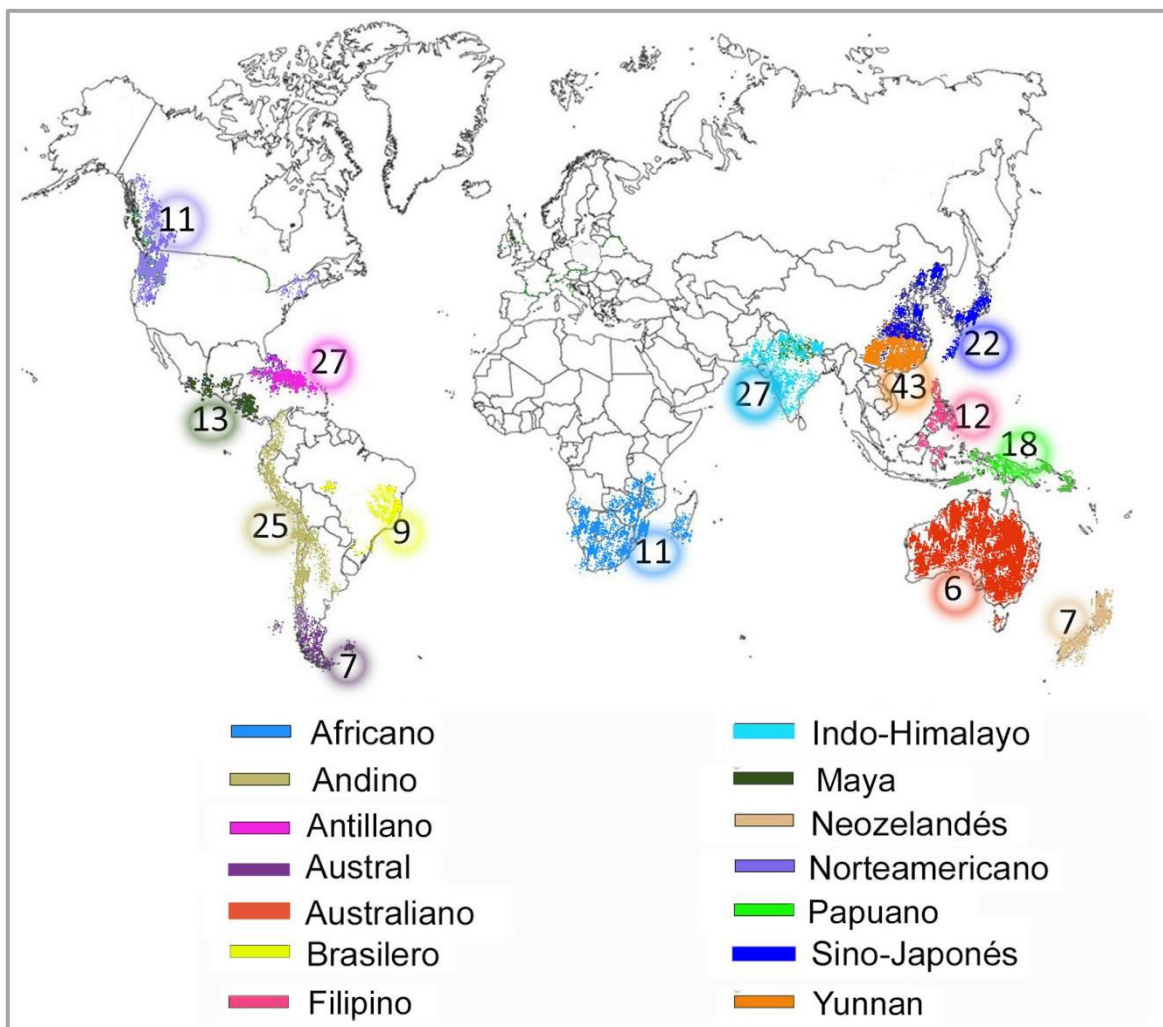


Fig. 2. Centros de diversidad de *Polystichum*. Para cada centro se indica la cantidad aproximada de especies endémicas, tomado de Barrington & Driscoll 2005.

Los *Polystichum* Australes comprenden 7 especies y dos variedades, que habitan Chile, desde la provincia de Aconcagua (32°56'S) hasta las islas Wollaston (55°58'S) (Rodríguez R. 1987), y la Argentina desde la provincia de Mendoza hasta Tierra del Fuego (de la Sota et al. 1998). De ellas, 4 especies y dos variedades (*P. chilense* var. *chilense*, *P. chilense* var. *dusenii*, *P. multifidum* var. *multifidum*, *P. multifidum* var. *pearcei*, *P. plicatum* y *P. andinum*) crecen en los Bosques Subantárticos de Chile y Argentina, una especie (*P. subintegerrimum*) habita exclusivamente en el faldeo occidental de los Andes chilenos y las dos restantes: *P. mohrioides* y *P. tetragonum*, son endemismos de las Islas Malvinas y el archipiélago Juan Fernández, respectivamente. Además, cabe mencionar a *P. fuentesii*, que habitaba en la Isla de Pascua (Chile). Esta especie desde 2011 está categorizada como “extinta” acorde a los criterios de la UICN (Ministerio del Ambiente, Inventario Nacional de Especies de Chile, disponible en el sitio [http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/.](http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/)) La única vez que se encontraron ejemplares vivos fue en 1911 (Looser 1958).

Uno de los factores que influyen la distribución de los *Polystichum* Australes es la “Diagonal Árida de América del Sur”. Esta importante barrera climatológica-geomorfológica es uno de los acontecimientos más significativos en la historia evolutiva-biogeográfica de la flora del Cono Sur. Se halla representada por una franja continua de clima árido que atraviesa en sentido noroeste-sureste el sur de Sudamérica (Ponce et al. 2002, Villagrán & Hinojosa 2005). Esta barrera ha provocado un aislamiento paulatino de los bosques patagónicos, suerte semejante han experimentado la mayoría de las especies de *Polystichum* que son componentes frecuentes del sotobosque de este ecosistema. Estas especies, adaptadas a las condiciones climáticas rigurosas que imperan en el extremo sur del continente, tienen un rango de distribución restringido, lo que sugiere que constituyen un linaje evolutivo diferente del resto de sus congéneres sudamericanos.

Numerosas contribuciones sobre la biogeografía de Sudamérica austral afirman que esta región tiene una historia florística compartida con otras áreas australes del planeta, como África, Australia y Nueva Zelanda (Crisci et al. 1991, Roig Juñent 1994, Sanmartín & Ronquist 2004). Hasta el momento se desconocen las relaciones de parentesco de los

Polystichum Australes, pero una hipótesis desafiante, basada en caracteres morfológicos similares, es que estas especies estarían más relacionadas filogenéticamente con las de Australia y Nueva Zelanda que con las restantes especies sudamericanas.

Polystichum es un género taxonómicamente conflictivo. La identificación de las especies, tanto en el campo como en los herbarios representa un desafío (Barrington 2011). Las especies Australes no escapan a esta regla, por ello su taxonomía presenta una profusa y controvertida sinonimia. En general, el grupo ha recibido escasa atención y siempre con información fragmentaria (Hicken 1906, 1907a,b, 1909, Christensen 1910, Hosseus 1915, Looser 1939, 1968, Diem 1943, 1958, 1960, Pichi-Sermolli & Bizarri 1978, Rodríguez Ríos 1987, Marticorena & Rodríguez Ríos 1995, de la Sota *et al.* 1998). No hay antecedentes de estudios moleculares y sólo para una de las especies se ha reportado el número cromosómico (*P. subintegerrimum*: $2n = ca. 328$, Jara-Seguel *et al.* 2006). Consecuentemente, la posición y validez de varias entidades es aún incierta, como lo es también la ubicación de este grupo en la filogenia de *Polystichum*. De allí la necesidad de ampliar el conocimiento en áreas inexploradas de su biología, tales como la anatomía, la morfología, la biología molecular y la citología.

Objetivos

De acuerdo con los antecedentes desarrollados, el **objetivo general** de este trabajo es:

Aportar información que permita conocer la biología, actualizar la sistemática e interpretar la filogenia de los *Polystichum* del sur del continente sudamericano.

Los **objetivos específicos** que se propusieron alcanzar son:

1. Realizar una revisión taxonómica del grupo en estudio con base en ejemplares de herbario, material vivo y preservado y consulta de los ejemplares tipos.
2. Estudiar los caracteres anatómicos y morfológicos de mayor relevancia para la identificación de las especies.
3. Conocer el número cromosómico de las especies y determinar la presencia de híbridos.
4. Probar la monofilia del grupo austral con base en datos moleculares.
5. Evaluar las relaciones de parentesco entre los *Polystichum* Australes y otros *Polystichum* del mundo, en especial con el grupo Andino, con base en datos moleculares.

Se postula como **hipótesis** de este trabajo:

Los taxones de *Polystichum* del sur de Sudamérica (Chile y sur de Argentina) constituirían un grupo monofilético dentro del género.



CAPÍTULO I. CARACTERIZACIÓN CROMOSÓMICA

INTRODUCCIÓN

Podría afirmarse que la citogenética de los helechos comienza en 1950 con la publicación del libro *Problems of Cytology and Evolution in the Pteridophyta*, de Irene Manton. A partir de esta publicación, basada en el estudio de los pteridofitos británicos y de Madera, y otras que le siguieron (Manton 1954, Manton & Sledge 1954, Manton 1959), se estimuló notablemente el interés de los investigadores por obtener información citogenética de los helechos en diferentes partes del mundo (India: Verma 1961, Abraham et al. 1962, Patnaik & Panigrahi 1963, Bir 1973, Ghatak 1977, Mahabale & Kamble 1981; Nueva Zelanda: Brownsey 1985, Brownsey & Smith-Dodsworth 2000; Canadá: Britton 1953, 1964; Estados Unidos: Wagner Jr. 1973; Jamaica: Walker 1966; Japón: Kurita 1966, Mitui 1965, 1966). Pero la trascendencia de esta obra a lo largo de décadas radica en que la autora, apoyándose en datos cromosómicos, logró una profunda comprensión de los mecanismos genéticos que operan en la hibridación, especiación y evolución de los helechos.

Los datos cromosómicos también pueden resultar en una importante herramienta taxonómica para discriminar especies de helechos y complejos de especies, e inclusive grupos taxonómicos más inclusivos (Holtum 1971, Windham & Yatskievych 2003). Entre estos datos, el número cromosómico, representa el paso inicial y fundamental en el estudio de cualquier grupo de organismos; lejos de ser el más simple de los parámetros cariotípicos muestra una visión global de la organización del genoma y es una característica fenotípica que no está influenciada por la edad, fases de desarrollo o las condiciones ambientales externas (Guerra 2008). La comparación de los números cromosómicos entre taxones relacionados, en muchos casos, puede ser una guía definitiva para entender la filogenia del grupo (Manton 1950).

Además del número cromosómico, la morfología de los cromosomas es una importante evidencia citogenética que puede ser aplicada para resolver problemas taxonómicos entre las especies e inferir acerca de sus relaciones evolutivas (Singh 2003).

Básicamente, la morfología está definida por la longitud del cromosoma y la posición del centrómero. Particularmente, en los helechos homosporados (ca. 95% de las especies actuales de helechos) es común observar un alto índice de cromosomas telo- y subtlocéntricos (Manton 1950, Walker 1985, Kawakami 1982, Takamiya et al. 1992, Marcon et al. 2003a) y en menor medida acrocéntricos; a diferencia de los heterosporados donde predominan los meta- y submetacéntricos (Kuriachan 1979, Takamiya 1993, 1994, Marcon et al. 2005).

La mayoría de los helechos homosporados se caracterizan por poseer un elevado número de cromosomas. Estos genomas son los más grandes y probablemente los más complejos entre los organismos vivos. Contienen un promedio de $n = 57,05$ cromosomas, alrededor de tres veces más que el promedio de las plantas con flores ($n = 15,99$) y cuatro veces más que el pequeño grupo de las pteridofitas heterosporadas ($n = 13,62$) (Klekowski & Baker 1966, Soltis & Soltis 1990). Según Grant (1981) y Haufler (2002) el 95% de los helechos homosporados son poliploides.

La poliploidía, ha sido uno de los principales mecanismos genéticos de especiación en los helechos (Barrington 1985a,b, Barrington et al. 1989). Este proceso de multiplicación del número cromosómico básico ancestral debió asociarse con reajustes cromosómicos estructurales y con la pérdida de cromosomas completos (aneuploidía) y fue la base genética para la diversificación de géneros y de grandes grupos supragenéricos (Manton 1950, Lovis 1977).

En la mayoría de los casos, los diferentes niveles de ploidía dentro de géneros e incluso especies (series poliploides) se asocian con diferencias morfológicas y ecológicas, por lo que las plantas con diferente ploidía pueden reconocerse, en muchos casos, como taxones distintos (Cubas 1990).

En *Polystichum*, la poliploidía asociada a eventos de hibridación ha jugado un rol importante en la especiación (Barrington 1990, Lin et al. 2011). Sería especialmente útil contar con un análisis de la información cromosómica del género a escala global para

conocer la incidencia de este fenómeno en los diferentes centros geográficos de diversificación.

Además de las características cromosómicas mencionadas precedentemente, resulta importante investigar el apareamiento cromosómico en la meiosis. El análisis preciso del entrecruzamiento cromosómico permite detectar fallas en las asociaciones cromosómicas (apareamiento irregular), que pueden ser indicadoras de esterilidad y de barreras reproductivas entre los taxones. Por ello, las aberraciones meióticas brindan información fehaciente sobre los procesos de hibridación, reticulación y especiación en los helechos (Barrington et al. 1989, Soltis & Soltis 1995, 2000, 2003, Haufler 2002). En *Polystichum*, la mayoría de los trabajos que reportan híbridos presentan evidencias del comportamiento meiótico irregular, complementándose en algunos casos, con datos morfológicos, de isozimas y/o moleculares (Manton 1950, Daigobo 1972, 1974, Vida & Reichstein 1975, Wagner Jr. 1973, Lovis 1977, Wagner 1979, Barrington 1985a,c, Barrington et al. 1986, Barrington 1990, Lin et al. 2011, Miyamoto & Nakamura 1983).

El examen del apareamiento meiótico también permite identificar el mecanismo de poliploidización. En la autoploidización, al estar presentes más de 2 copias de cada cromosomas y siendo éstas homólogas entre sí, se forman “multivalentes” durante la meiosis, que son figuras cromosómicas fácilmente identificables. En tanto, en los aloploidios, que típicamente derivan de la hibridación de dos o más genomas de especies alejadas, los bivalentes son la regla. Los estudios biosistemáticos realizados en algunos géneros, incluyendo a *Polystichum*, apuntan a la idea de que la mayor parte de los helechos poliploides son en realidad aloploidios (Sleep 2014).

En general, en los helechos homosporados hay una correlación positiva entre el nivel de ploidía y el tamaño (e.g. longitud) y forma de las esporas; al mismo tiempo, estos atributos y el número de esporas por esporangio permiten diferenciar especies apomíticas de las que se reproducen sexualmente (Manton 1950, Crane 1953, Barrington et al. 1986, Wagner et al. 1986, Quintanilla & Escudero 2006). Los híbridos aloploidios con reproducción sexual, muchos de ellos frecuentes, son reconocidos por el tamaño de

las esporas, usualmente más grandes que sus parentales diploides (Barrington et al. 1986). Por otra parte, una gran variación en la forma y el tamaño y una morfología irregular de las esporas proporcionan una indicación clara de esporas abortivas, siendo ésta una valiosa herramienta para la detección de híbridos estériles (Wagner 1962, Wagner et al. 1986, Barrington 1985a,b, 1990, Cubas & Pardo 1992, Perrie et al. 2003a, Lin et al. 2011).

Si bien la Fam. Dryopteridaceae es grande y morfológicamente muy diversa, citológicamente es muy constante, siendo el número básico de cromosomas de la familia $x=41$ (raro 40). Se conocen los números cromosómicos de alrededor 330 taxones (Goldblatt & Johnson 2010, disponible en el sitio <http://www.tropicos.org/Project/PCN>), lo cual representa ca. 20 % de las especies de Dryopteridaceae. Los géneros con mayor número de especies con datos cromosómicos son *Dryopteris* (108 spp.), *Polystichum* (ca. 80 spp.) y *Arachniodes* (44 spp.), siendo los dos primeros, los grupos con mayor variedad de niveles de ploidía entre sus especies y mayor número de híbridos (Apéndice 1). Entre los principales autores que han aportado datos citológicos desde la obra de Manton (1950) hasta la actualidad (excluyendo los de *Polystichum* que se detallan en el Apéndice 2) pueden citarse a Mitui (1965), Löve et al. (1977), Tsai & Shieh (1985), Shimura & Oishi (1980), Wang & Xia (1984), Weng (1990), Kato et al. (1999), Lu et al. (2005), Yatskievych (1996), Lu & Cheng (2003) y Lu et al. (2006ab).

Los datos cromosómicos de *Polystichum*, se han obtenido para especies de diferentes partes del mundo (Apéndice 2). Sin embargo, el conocimiento citológico de las especies de Sudamérica es escaso. Hasta el momento, sólo se han reportado los números cromosómicos de 5 taxones de los *Polystichum* Andinos (Smith & Mickel 1977, Wagner 1980, Smith & Foster 1984). En relación a los *Polystichum* Australes solamente una especie, *P. subintegerrimum* (Jara-Seguel et al. 2006), cuenta con datos cromosómicos. También existe un recuento para *P. mohrioides* (Löve et al. 1977), pero se trata de una identificación incorrecta, ya que el espécimen estudiado no corresponde al típico *P. mohrioides* que habita en las Islas Malvinas.

En *Polystichum*, la hibridación seguida de la duplicación de los genomas ha jugado un rol importante en la diversificación de las especies, que se refleja en la elevada frecuencia de taxones poliploides (Barrington et al.1986, Barrington 1990, Lin et al. 2011). Asimismo, los híbridos y complejos de híbridos son muy frecuentes en *Polystichum* y representan muchos de los problemas en la definición de las especies en este género. Los estudios cromosómicos permitieron resolver eventos de hibridación e hipótesis evolutivas para muchos complejos de *Polystichum* en Europa (Manton 1950), América del Norte (Wagner 1973), América Central (Barrington 1985a,b) y Asia (Daigobo 1972); sin embargo, hasta la fecha, no hay antecedentes de estudios similares para los *Polystichum* de Sudamérica, incluido el grupo Austral. Por lo tanto, considerando estos antecedentes, se plantearon como **objetivos**:

1. conocer el número cromosómico de las especies de *Polystichum* del grupo Austral;
2. usar datos de la morfología y tamaño de las esporas para explorar el nivel de ploidía y la biología reproductiva;
3. determinar la presencia de híbridos entre las especies de *Polystichum* del grupo Austral;
4. conocer la incidencia de la poliploidía en los diferentes centros geográficos de diversificación de *Polystichum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la localización, reconocimiento a campo y recolección del material de estudio, se efectuaron dos viajes al sur argentino (Provincias de Neuquén y Río Negro), un viaje al sur de Chile (Provincia de Osorno, X Región de Los Lagos) y otro a la Isla Robinson Crusoe (Arch. Juan Fernández). Además, otros colaboradores proveyeron muestras y plantas vivas de Chubut y Tierra del Fuego (Guardaparque Félix Vidoz, Dr. Javier Puntieri y Biól. Sandra Amuchástegui) y especímenes de herbario y muestras en silica gel de Islas Malvinas (Dr.

Richard Lewis). Los esporofitos fueron colectados de poblaciones naturales y cultivados en el invernáculo de la Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba (Argentina). Los ejemplares de herbario que documentan estos estudios están depositados en el herbario del Museo Botánico de Córdoba (CORD).

Los análisis citogenéticos se realizaron en siete taxones del grupo Austral y adicionalmente, a los fines comparativos, se estudiaron tres especies del grupo Andino (*Polystichum montevidense*, *P. pycnolepis* y *P. platyphyllum*). Los taxones investigados, con sus centros de diversidad, datos de los cromosomas, datos de colección y referencias de las figuras, se listan en las Tablas 1 y 2.

1. Análisis de los cromosomas mitóticos

Se emplearon primordios foliares (tres por espécimen), cortados en pequeños fragmentos de aproximadamente 2 mm de ancho. Los fragmentos fueron tratados en una solución 8-hidroxiquinoleína 2mM durante una hora a temperatura ambiente, seguido de 8 horas a 14°C, luego fueron fijados en una solución de etanol absoluto-ácido acético glacial (3:1 v/v) y conservados a -20°C (Buarque et al. 2003).

Para la coloración de los cromosomas, los fragmentos de los circinos fueron enjuagados en agua destilada 4-5 veces, y luego hidrolizados en 3 ml de celulasa 2%-pectinasa 20%, por 2 horas a 37°C. Las células hidrolizadas se lavaron 3-4 veces en agua destilada para remover las enzimas residuales. Las células mitóticas se tiñeron con carmín alcohólico-clorhídrico (como se detalla en Guillén & Daviña 2005).

Para el análisis de los cromosomas, al menos 30 metafases por taxón fueron fotografiadas con microscopio de contraste de fase Axiophot. Las fotomicrografías fueron empleadas para medir el largo de cada uno de los cromosomas; con estos datos se calculó el promedio de la longitud de cada cromosoma y la longitud total del complemento cromosómico diploide. Para las mediciones se utilizó el programa Image J (Rasband 2014 disponible en el sitio <http://rsb.info.nih.gov/ij/>).

2. Análisis de las esporas y esporangios

Para cada taxón se contaron, en dos especímenes, el número de esporas regulares y abortivas de diez esporangios cerrados. Las esporas de estas muestras fueron montadas en medio de Hoyer sobre portaobjetos y se fotografiaron con microscopio de contraste de fase Axiophot a 400x. Para determinar el tamaño de las esporas, se midieron treinta esporas normales de diferentes esporangios. El área y el eje mayor de cada espora en vista distal fueron estimados usando el programa *Image J* (Rasband 2014). El perisporio, que es ornamentado en la mayoría de las especies de *Polystichum*, fue excluido de las mediciones. En el análisis estadístico se determinaron la mediana, la desviación estándar y la varianza. A los fines de comparar el tamaño de las esporas entre las especies y evaluar la correlación entre el tamaño de la espora y el nivel de ploidía, se realizó un test de ANOVA y un test de Tukey, respectivamente. Se aplicó una transformación logarítmica base-10 de la variable tamaño de la espora a fin de obtener una distribución normal de los residuos de la variable. El software *Infostat* versión 1.1 (Di Rienzo et al. 2002) se utilizó en todos los análisis que involucraron datos numéricos.

3. Análisis de los cromosomas meióticos

Las preparaciones meióticas se realizaron empleando esporangios fijados en el campo o en el invernadero en una solución de etanol absoluto: ácido acético glacial, 3:1. Las muestras se guardaron a 4°C por 24 horas y después se conservaron a -20°C, hasta su estudio. Los esporangios se tiñeron con carmín acético al 2% al momento de su observación. Las células madres de las esporas (CME) fueron forzadas a salir del esporangio con presión sobre el cubreobjeto y calentadas a 60°C para mejorar la tinción (Barrington 1990).

Se realizaron al menos 30 preparados; en cada uno de ellos se analizaron todas las CME disponibles. Cuando fue posible obtener la diacinesis se analizó el apareamiento cromosómico, en 7-10 células (Profase I), registrándose el rango de variación de las diferentes asociaciones cromosómicas (univalentes, bivalentes y multivalentes) halladas.

Además, se examinó el comportamiento meiótico desde metafase I hasta el estadio de tétrada, en al menos 10 células en cada estadio. Se registraron las irregularidades meióticas, las que se clasificaron siguiendo el criterio de Seijo (2002).

Para revelar el comportamiento meiótico de dos probables híbridos, se analizaron muestras de esporofilos fértiles de dos especímenes [Morero 386, 389 (CORD)]. Al mismo tiempo, fue posible realizar recuentos cromosómicos mitóticos en uno de estos ejemplares (Morero 389, CORD), cultivado en invernáculo.

En las especies poliploides se encontró dificultad en la obtención de buenos preparados meióticos, pues es difícil lograr que los cromosomas se extiendan y distribuyan separadamente unos de otros durante la aplicación de la técnica de “squash”.

Cabe agregar que en dos casos: *Polystichum mohrioides* y *P. multifidum* var. *pearcei*, no se pudieron realizar los análisis cromosómicos, porque no fue posible obtener especímenes vivos. Los especímenes de *P. multifidum* analizados citogenéticamente corresponden a la variedad típica. Asimismo, no se pudieron realizar los análisis meióticos en *P. subintegerrimum* por encontrarse las plantas en estado avanzado de esporulación (en todos los viajes de colección realizados).

4. Revisión de la literatura con datos citogenéticos de *Polystichum*

Se realizó un resumen de los datos citológicos de *Polystichum* de todo el mundo con base en la literatura disponible (Apéndice 2) y con la información de una base de datos en línea (Barrington 2006). Cada registro fue asignado al/los centros de diversidad de Barrington & Driscoll (2005). Luego, se realizó el análisis de distribución de frecuencias usando Infostat versión 1.1 (Di Rienzo et al. 2002).

Tabla 1. Taxones de *Polystichum* investigados con sus centros de diversidad, recuentos cromosómicos y medidas, datos de colección y referencias de cada figura mitótica

Taxón	Centro de diversidad	Número de cromosomas	Promedio del largo de los cromosomas (μm)	Largo total de los cromosomas (diploide, μm)	Localidad y elevación (m)	Ejemplares de referencia	Figuras
<i>Polystichum andinum</i> Phil.	Austral	$2n = 4x = 164$	3,58	581,78	ARGENTINA. Río Negro. Bariloche. 1696	MORERO R. 291, 380(CORD)	3A
<i>P. chilense</i> (H. Christ) Diels var. <i>chilense</i>	Austral	$2n = 4x = 164$	3,90	507,84	ARGENTINA. Neuquén. Villa La Angostura. 1112	MORERO R. 302, 315 (CORD)	3B
<i>P. chilense</i> var. <i>dusenii</i> (C.Chr.) Looser ex R.Rodr.	Austral	$2n = 4x = 164$	4,10	673,00	ARGENTINA. Neuquén. Villa La Angostura. 1155	MORERO R. 307, 308 (CORD)	3C
<i>P. multifidum</i> (Mett.) H. Christ	Austral	$2n = 4x = 164$	4,62	758,15	ARGENTINA. Neuquén. Villa La Angostura. 1155	MORERO R. 306 (CORD)	3D
<i>P. montevidense</i> (Spreng.) Rosenst.	Andino	$2n = 2x = 82$	5,45	440,15	ARGENTINA. Córdoba. Los Gigantes. 1700	MORERO R. 342 (CORD)	4A
<i>P. platyphyllum</i> (Willd.)C. Presl	Andino	$2n = 2x = 82$	5,34	438,08	ARGENTINA. Tucumán. Cuesta del Clavillo. 1780	MORERO R. 352 (CORD)	4B
<i>P. plicatum</i> (Poepp. ex Kunze) Hicken	Austral	$2n = 4x = 164$	4,21	695,40	ARGENTINA. Río Negro. Bariloche. 1035	MORERO R. 241, 293 (CORD)	3E
<i>P. pycnolepis</i> (Kunze ex Klotzsch) T. Moore	Andino	$2n = 2x = 82$	5,75	440,68	ARGENTINA. Córdoba. Sierras Grandes. 1889	MORERO R. 341, 319 (CORD)	4C
<i>P. subintegerrimum</i> (Hook. et Arn.) R. A. Rodr.	Austral	$2n = 8x = \text{ca.} 328$	2,50	822,85	ARGENTINA. Chubut. Lago Puelo. 420	MORERO R. 371, 379 (CORD)	3F
<i>P. tetragonum</i> Fée	Austral	$2n = 4x = 164$	3,97	655,97	CHILE. Juan Fernández Archipiélago. Robinson Crusoe Island. 247	MORERO R. 322, 323 (CORD)	4D

RESULTADOS

1. Números cromosómicos y ploidía

Se obtuvieron los números cromosómicos de esporófitos de siete taxones del grupo Austral y tres taxones del grupo Andino (Tabla 1; Figs. 3, 4). Con dos excepciones (*P. platyphyllum* y *P. subintegerrimum*), estos recuentos cromosómicos se presentan por primera vez. Todos los taxones estudiados exhiben el número básico $x=41$, pero existe variación en los niveles de ploidía. Entre los taxones Australes, seis son tetraploides ($2n=4x=164$) y uno, *P. subintegerrimum*, es octoploide ($2n=8x=ca.328$). Las especies andinas: *P. montevidense*, *P. pycnolepis* y *P. platyphyllum* presentan número cromosómico diploide ($2n=2x=82$).

2. Tamaño y morfología cromosómica

La suma de las longitudes de los cromosomas en los núcleos somáticos varió de 438,08 μm en *P. platyphyllum* a 822,85 μm en *P. subintegerrimum*, correspondiendo a la especie con mayor ploidía el valor más alto de longitud cromosómica. Las especies diploides tuvieron las longitudes más pequeñas (Tabla 1).

El promedio de la longitud de cada cromosoma (en los sets de cromosomas somáticos) oscila entre 2,50 μm in *P. subintegerrimum* y 5,75 μm en *P. pycnolepis* (Tabla 1).

En general, las especies estudiadas tienen cromosomas que son homogéneos en tamaño. Los centrómeros son inconspicuos, aunque en las especies diploides ellos se distinguen con más claridad, siendo la mayoría de los cromosomas subtelocéntricos (no más de un tercio son metacéntricos); no se encontraron cariotipos bimodales y las constricciones secundarias fueron observadas con frecuencia en *P. platyphyllum* y *P. pycnolepis*.

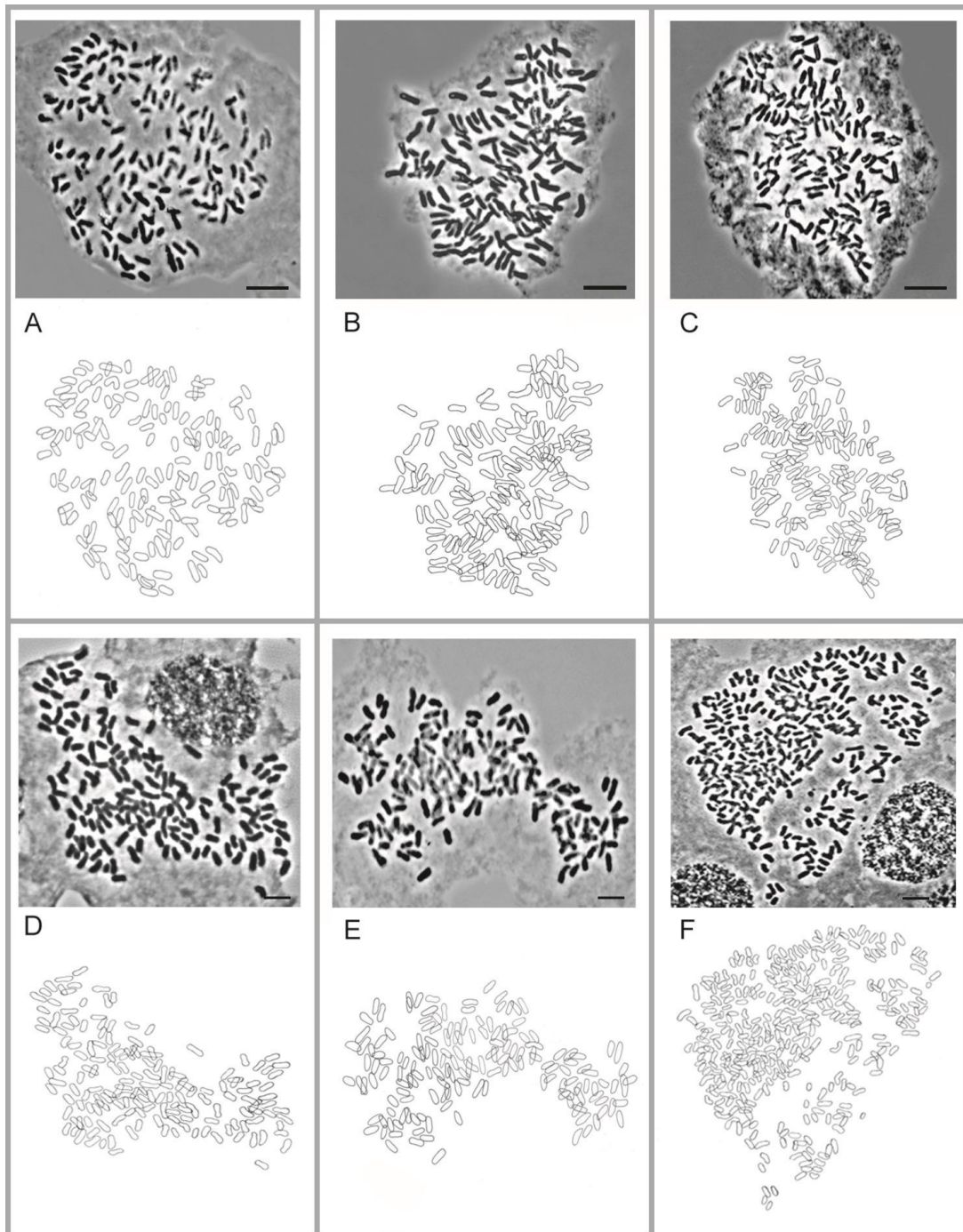


Fig. 3. Fotografía (arriba) y dibujo explicativo (abajo) de cromosomas somáticos en metafase. A. *Polystichum andinum*, $2n=164$; B. *P. chilense* var. *chilense*, $2n=164$; C. *P. chilense* var. *dusenii*, $2n=164$; D. *P. multifidum*, $2n=164$; E. *P. plicatum*, $2n=164$; F. *P. subintegerrimum*, $2n=ca\ 328$. Barra= 5 μ m.

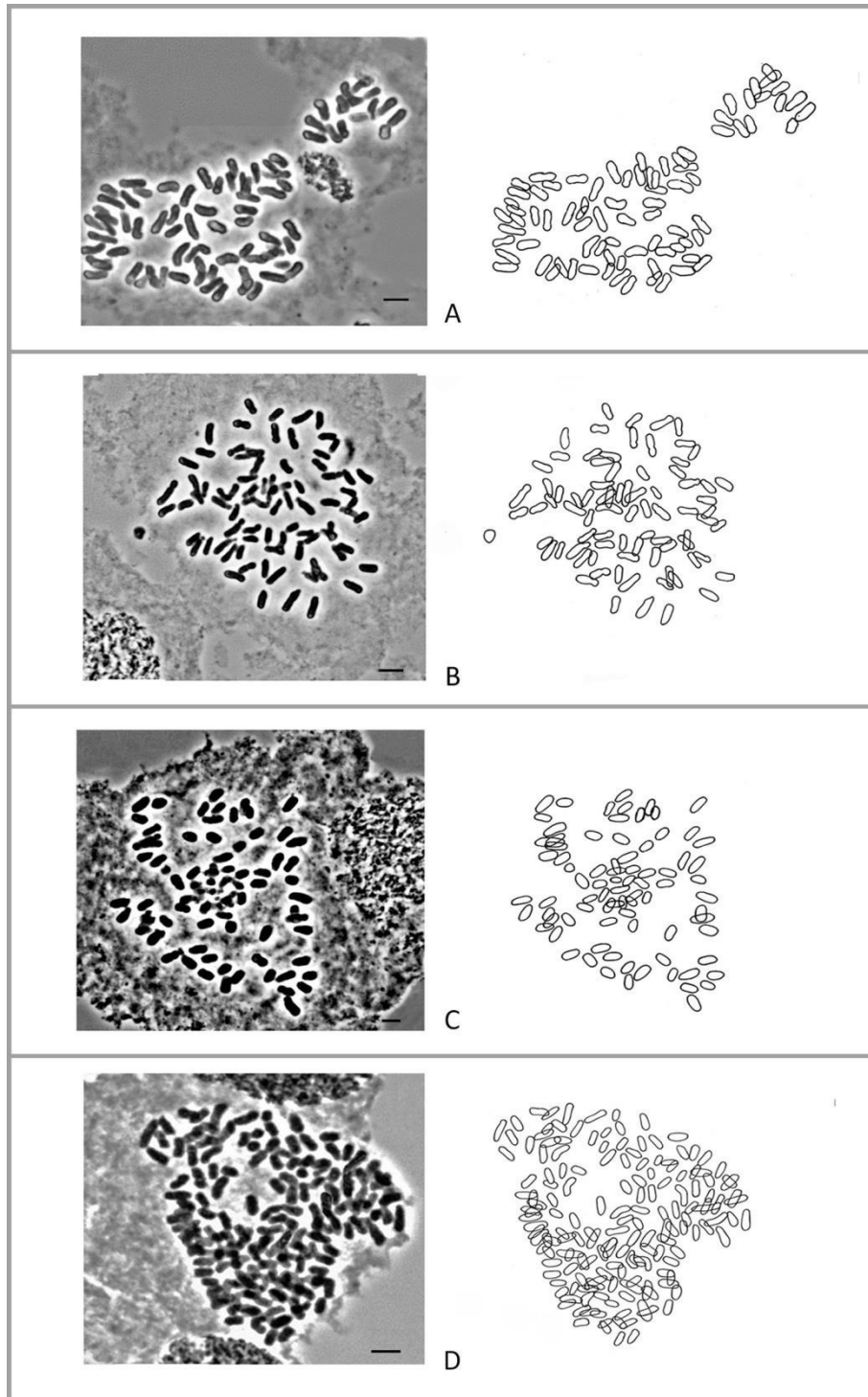


Fig. 4. Fotografía (izquierda) y dibujo explicativo (derecha) de cromosomas somáticos en metafase. A. *P. montevidense* 2n= 82; B. *P. platyphyllum*, 2n=82; C. *P. pycnolepis*, 2n= 82; D. *Polystichum tetragonum*, 2n=164. Barra= 5 µm.

3. Tamaño de las esporas y nivel de ploidía

Todas la especies analizadas presentaron 64 esporas por esporangio; menos del 15% fueron abortivas, excepto por *P. subintegerrimum* y *P. plicatum* con 29,34% y 18,23% de esporas abortivas, respectivamente. Se encontraron diferencias significativas en el tamaño de las esporas (expresado en superficie) entre las especies ($F = 265,22$, $p < 0,0001$): *P. pycnolepis* muestra el valor promedio más bajo ($410,32 \mu\text{m}^2$), seguido por *P. montevidense* ($490,19 \mu\text{m}^2$) y *P. platyphyllum* ($560,90 \mu\text{m}^2$). Por el contrario, las especies con las esporas de mayor superficie fueron *P. subintegerrimum* ($1.306,19 \mu\text{m}^2$) y *P. andinum* ($1.584,76 \mu\text{m}^2$); las restantes, tienen tamaños de esporas intermedios ($649,35$ - $774,23 \mu\text{m}^2$), comprendiendo los valores que no son significativamente diferentes entre sí (Fig. 5).

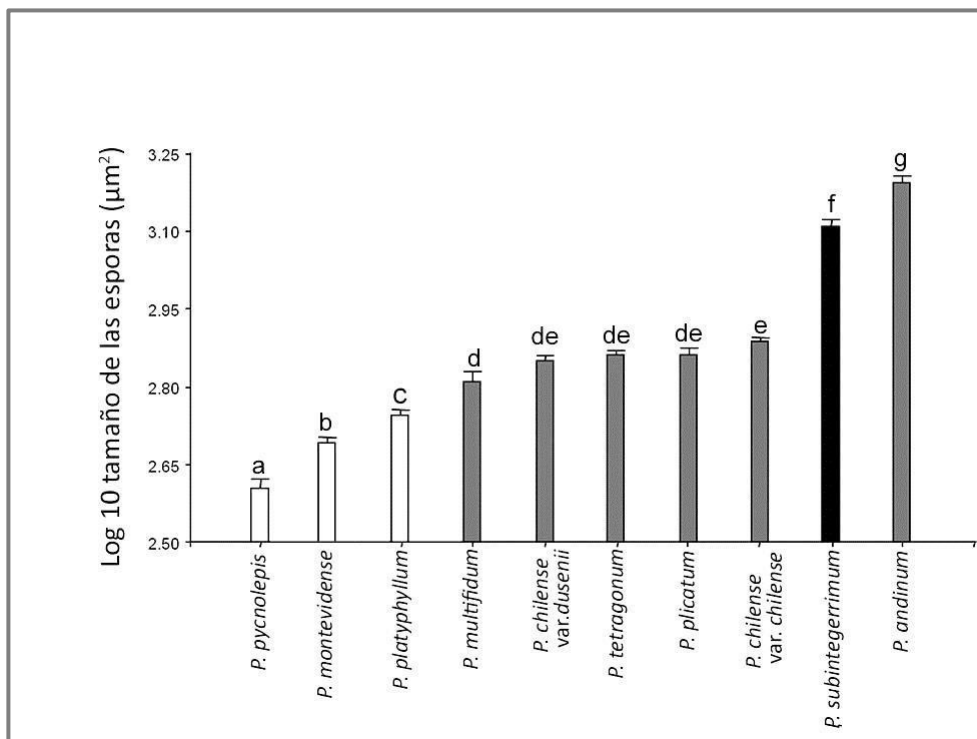


Fig. 5. Tamaño de las esporas (log. Base-10) y nivel de ploidía de las especies. El color de las barras indica la ploidía (blanco= 2x, gris= 4x, y negro =8x). Las letras sobre las barras indican diferencias significativas entre las especies (Test de ANOVA y test a posteriori de Tukey, $p < 0.05$).

Asimismo, se hallaron diferencias significativas en el tamaño de las esporas entre los niveles de ploidía ($F = 134,37$, $p = < 0,0001$). El tamaño de las esporas fue significativamente menor para las especies diploides, intermedio para las tetraploides (aun cuando se incluyeron los datos de *Polystichum andinum*) y el mayor para el taxón octoploide (Fig. 6).

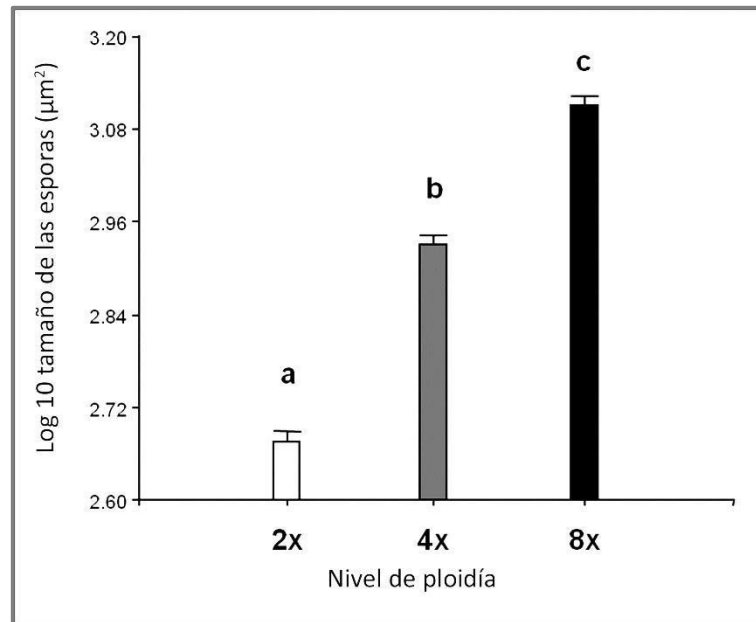


Fig. 6. Tamaño de las esporas (log. base-10) y niveles de ploidía. Las letras sobre las barras indican diferencias significativas (Test de ANOVA test, y test a posteriori de Tuckey, $p < 0.05$) en el tamaño de las esporas en relación al nivel de ploidía.

4. Comportamiento meiótico

Se analizaron las meiosis de cinco especies de *Polystichum* del grupo Austral y tres especies del grupo Andino (Tabla 2; Figs. 7-10).

El análisis meiótico en las especies poliploides se vió dificultado (especialmente en *Polystichum multifidum*) por el elevado número de cromosomas y el solapamiento de los mismos durante el aplastado de las células; así, en el análisis de apareamiento de los cromosomas sólo se cuantificaron aquellas asociaciones mejor definidas.

En la Tabla 2, se presentan los resultados del análisis del apareamiento cromosómico en diacinesis y metafase I. Seguidamente, se describen los resultados relativos al análisis del comportamiento meiótico desde metafase I hasta el estadio de tétrada.

Tabla 2. Análisis del apareamiento cromosómico en diacinesis y metafase I, datos de colección y referencias de cada figura.

El número subrayado corresponde a la moda. Abreviaturas: I, monovalente; II, bivalente; III, trivalente; IV, tetravalente.

Especie	Número gamético	Rango de bivalentes observados	Rango de tetravalentes observados	Rango de trivalentes observados	Rango de monovalentes observados	Ejemplares de referencia	Figuras
<i>Polystichum andinum</i>	n=82=2x	81-82 II	-	-	-	MORERO R. 291, 380 (CORD)	5A, B
<i>P. chilense var. dusenii</i>	-	Sin datos	-	-	-	MORERO R. 382, 391 (CORD)	5C-F
<i>P. montevidense</i>	n=41=x	40-41 II	-	-	-	MORERO R. 342, 349 (CORD)	8A, B
<i>P. multifidum</i>	n=ca.82=2x	56- <u>68</u> -76 II	0-6 IV	0-5 III	0-3 I	MORERO R. 306, 392 (CORD)	6A-F
<i>P. platyphyllum</i>	n=41=x	40-41 II	-	-	0-4 I	MORERO R. 352 (CORD)	8C, D
<i>P. plicatum</i>	n=82=2x	81-82 II	-	-	-	MORERO R. 241, 260 (CORD)	7A-C
<i>P. pycnolepis</i>	n=41=x	40-41 II	-	-	-	MORERO R. 283, 319 (CORD)	8E-F
<i>P. tetragonum</i>	n=82=2x	60- <u>77</u> -81 II	-	-	-	MORERO R. 323, 325 (CORD)	7D-F

Polystichum andinum. El número cromosómico gamético es 82. Los bivalentes fueron claramente identificables como se muestra en la Fig. 7A, la mayoría de ellos con configuraciones abiertas. La observación de CME (= células madres de las esporas) desde el estadio de metafase hasta tétrada reveló un comportamiento normal (superior al 90%), algunas de las irregularidades meióticas detectadas fueron cromosomas rezagados (Fig. 7B) y cromosomas fuera de placa, en un 10% de las células observadas.

Polystichum chilense var. *dusenii*. En el material analizado, no se observaron diacinesis debido a que las CME ya se encontraban en estadios meióticos posteriores. El análisis de las CME desde la metafase I a la etapa de formación de las tétradas reveló células (menos del 10%) con cromosomas fuera de placa en la metafase I y cromosomas rezagados en la telofase I; la mayoría de las tetrasporas y esporas observadas fueron normales (Fig. 7C-F).

Polystichum multifidum var. *multifidum*. El número cromosómico gamético es ca. 82. El análisis de las células en diacinesis reveló que la mayoría de las asociaciones cromosómicas fueron bivalentes (56-76 II, Tabla 2); además, se observaron asociaciones cromosómicas que podrían interpretarse como multivalentes (Tabla 2; Fig. 8A-B). El análisis de CME desde la metafase I a la formación de las tétradas mostró la presencia de algunas irregularidades, siendo las más comunes los cromosomas fuera de la placa metafásica y no integrados a los núcleos, y esporas mal formadas que representan alrededor del 16% de las células analizadas (Fig. 8 C-F).

Polystichum plicatum. El número cromosómico gamético es 82. Las diacinesis analizadas presentaron 81-82 bivalentes (Fig. 9A), la mayoría de las configuraciones cromosómicas fueron abiertas. En el análisis de las CME desde la metafase I a la etapa de formación de las tétradas, no se observaron irregularidades cromosómicas (Fig. 9 B,C).

Polystichum tetragonum. El número cromosómico gamético es ca. 82. En el análisis de las diacinesis se encontraron en todas las células mayor proporción de bivalentes (60-81, Tabla 2, Fig. 9D). No se detectaron CME con normalidades (Fig. 8 E,F), salvo una metafase con cromosomas fuera de placa entre 10 células encontradas en este estadio.

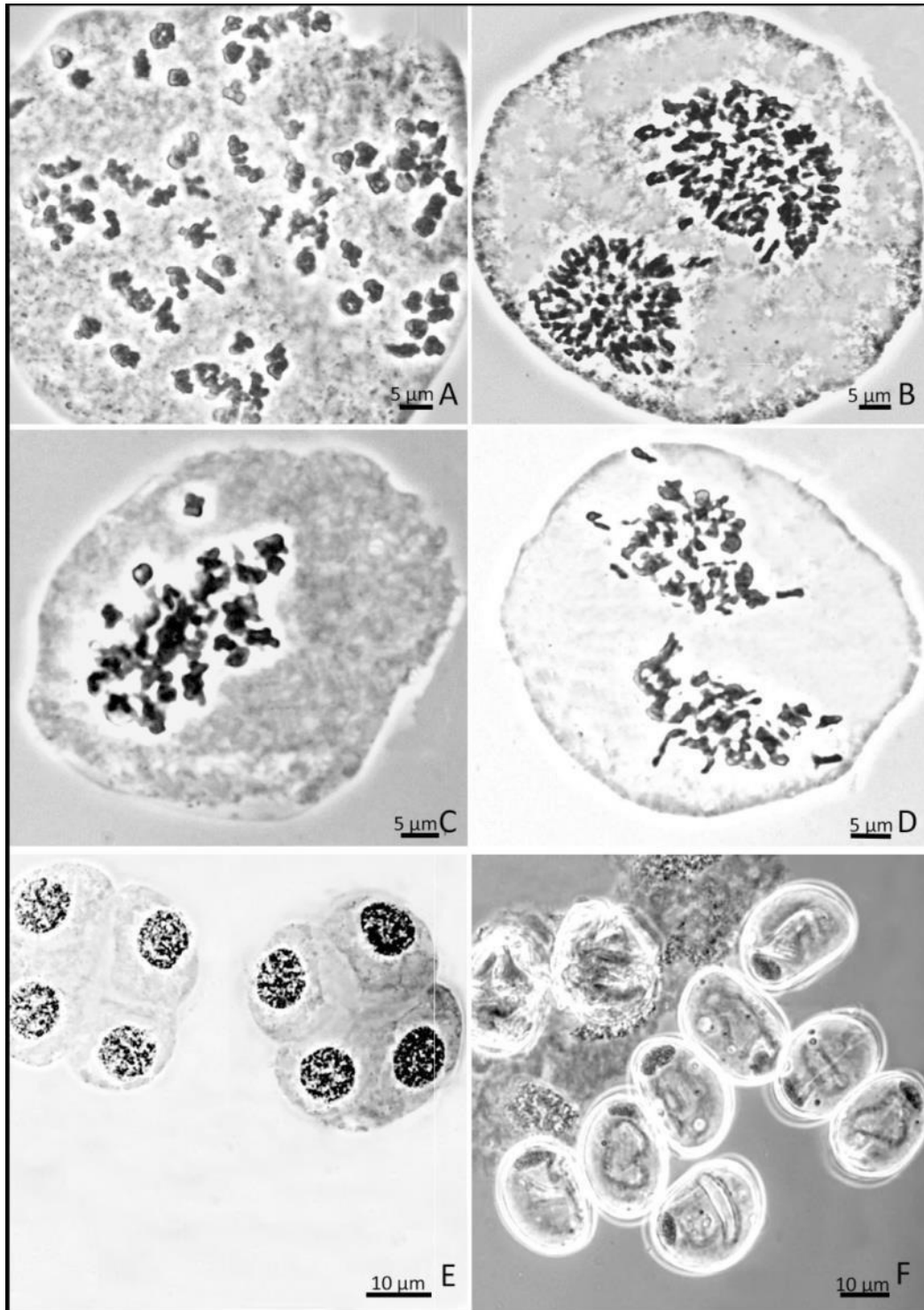


Fig. 7. Fases de la esporogénesis y esporas. **A, B.** *Polystichum andinum*. **A.** Diacinesis, exhibiendo la formación de bivalentes. **B.** Anafase I, con algunos cromosomas rezagados. **C-F.** *P. chilense* var. *dusenii*. **C.** Metafase I, con cromosomas fuera de placa. **D.** Telofase I, con cromosomas no integrados a los núcleos. **E.** Tétradas normales. **F.** Esporas antes de la formación del perisporio; las dos superiores de la izquierda, malformadas.

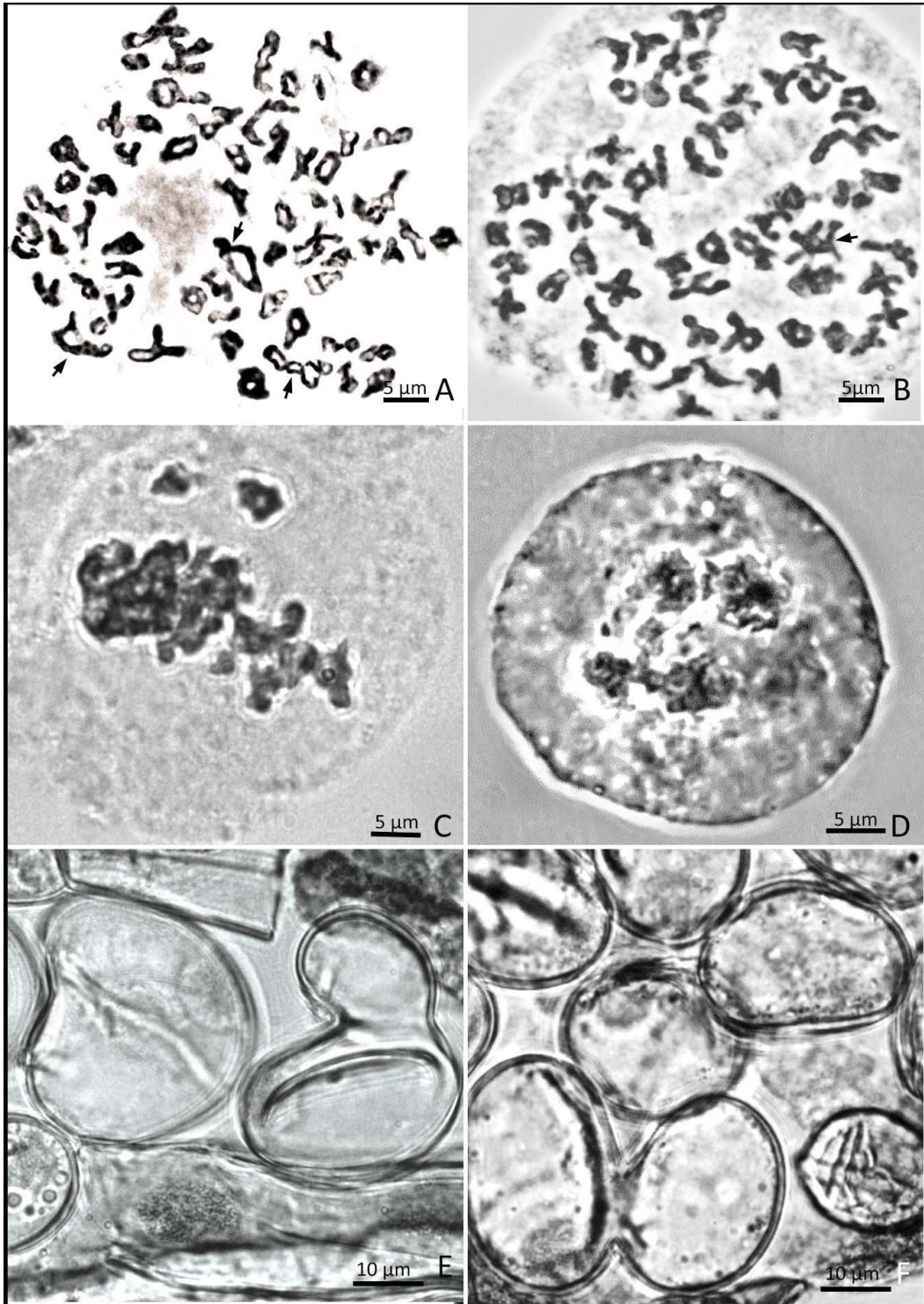


Fig. 8. Fases de la meiosis y esporas de *Polystichum multifidum* var. *multifidum*. **A, B.** Diacinesis, las flechas indican probables multivalentes. **C.** Metafase I con dos bivalentes fuera de placa. **D.** Anafase II anormal. **E, F.** Esporas malformadas por separación anormal de los esporocitos.

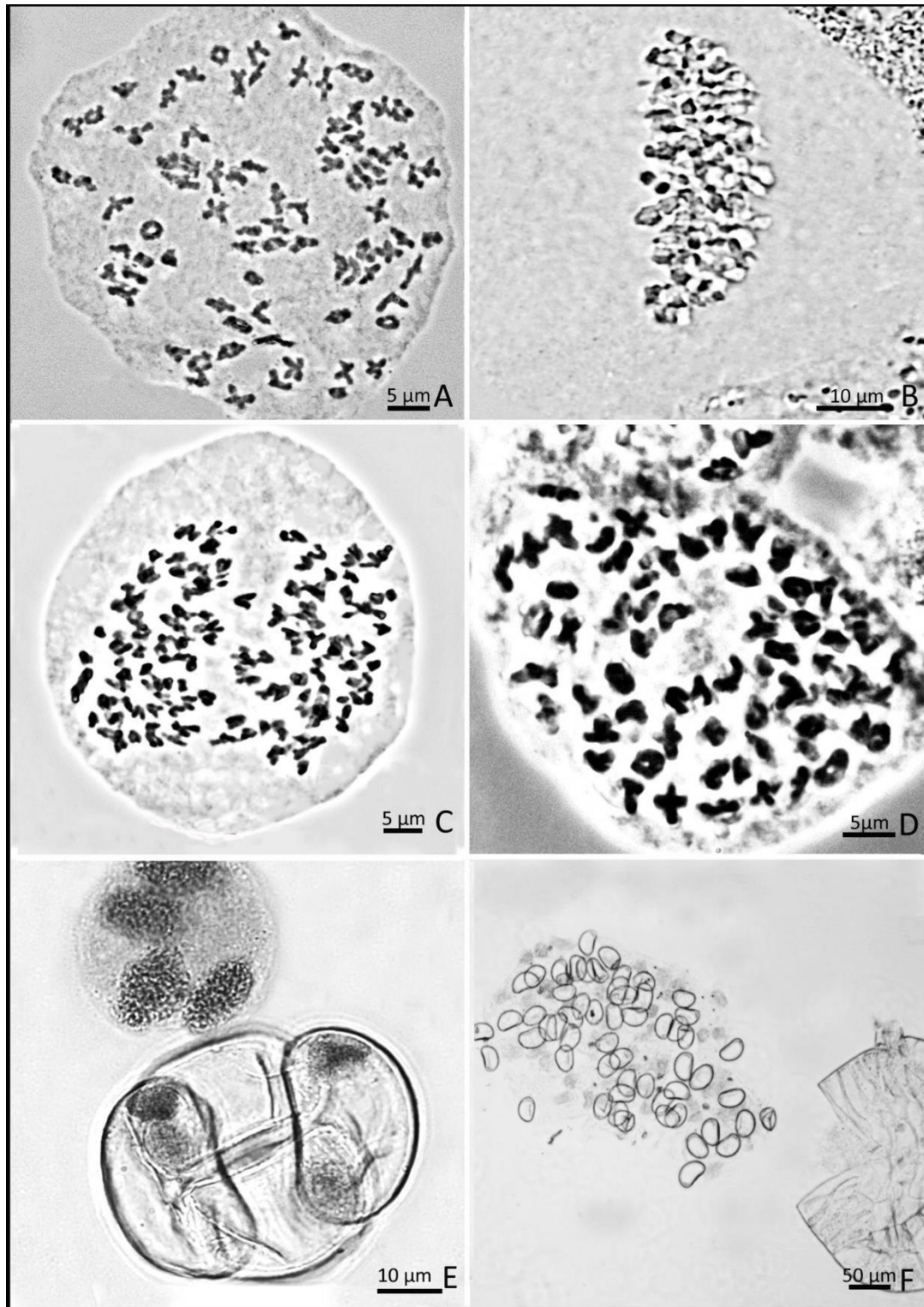


Fig. 9. Fases de la meiosis y esporas. **A-C.** *P. plicatum*. **A.** Diacinesis, exhibiendo el apareamiento bivalente. **B.** Metafase I. **C.** Anafase I. **D-F.** *Polystichum tetragonum*. **D.** Diacinesis. **E.** Célula en telofase II (arriba) y tétrada (abajo). **F.** Esporas normales liberándose del esporangio.

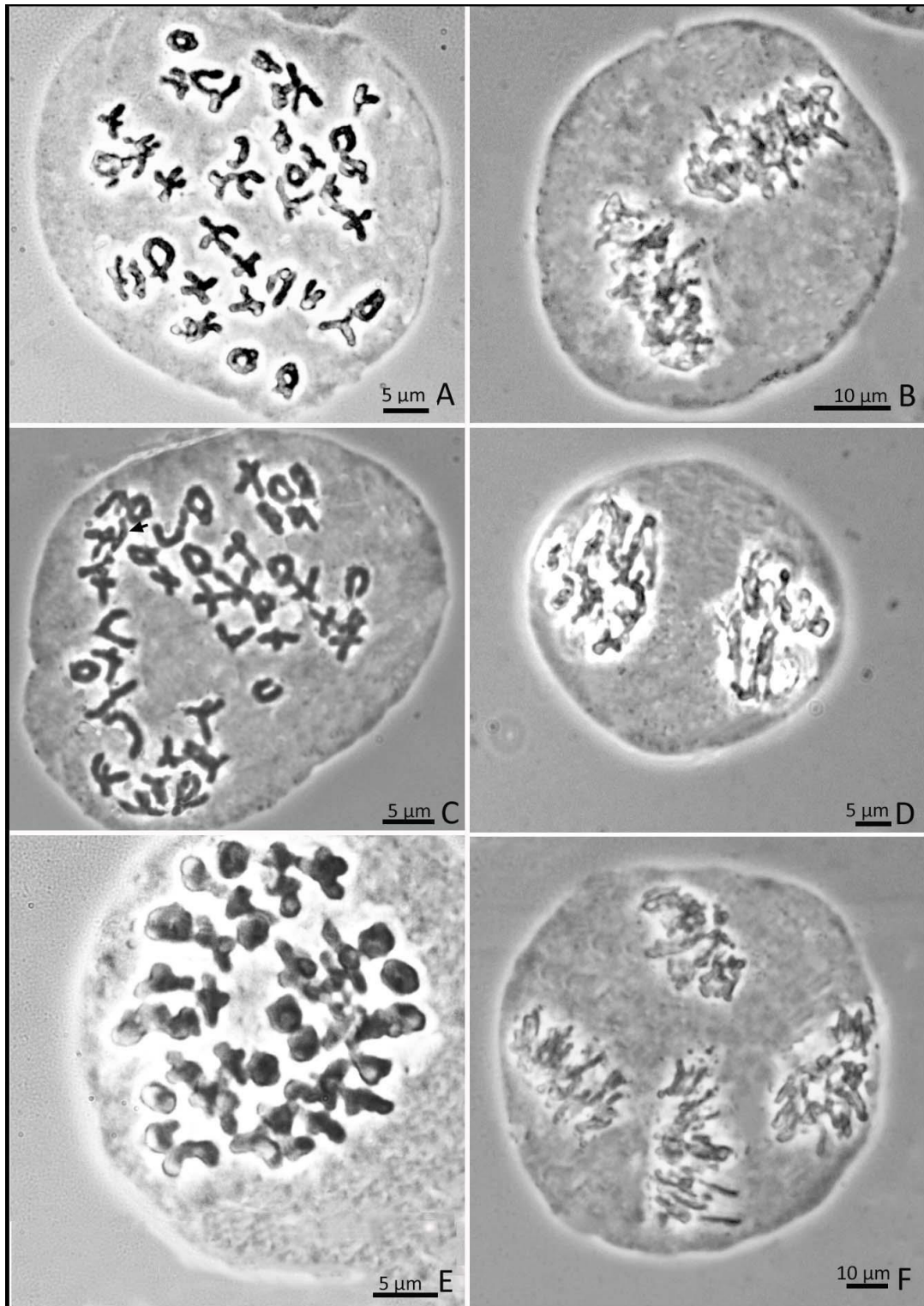


Fig. 10. Células madres de las esporas. **A,B.** *Polystichum montevidense*: **A.** Diacinesis. **B.** Anafase I. **C, D.** *P. platyphyllum*: **C.** Diacinesis, la flecha señala un monovalente. **D.** Anafase I. **E, F.** *P. pycnolepis*: **E.** Diacinesis. **F.** Anafase II.

En las especies diploides andinas, *Polystichum montevidense*, *P. pycnolepis* y *P. platyphyllum* el número cromosómico gamético es $n = 41$. Las tres taxones exhibieron diacinesis con 40-41 bivalentes (Fig. 10 A,C,E), sólo en *P. platyphyllum* fueron detectados 1-2 monovalentes (Fig. 10C) en muy baja frecuencia y no fueron observados en etapas posteriores. El análisis de las CME desde la metafase I a la etapa de formación de las tétradas, no reveló irregularidades cromosómicas (Fig. 10 B,D,F).

5. Híbridos putativos

El análisis de la esporogénesis de muestras provenientes de un ejemplar [Morero 386 (CORD)] con morfología intermedia entre *Polystichum chilense* y *P. subintegerrimum*, presentó recuentos en profase I tardía y metafase I con 230-236 cuerpos cromosómicos. Aunque los preparados no tuvieron la calidad suficiente para identificar con precisión cada una de las asociaciones cromosómicas, se estima que es un hexaploide, observándose un rango de 10-20 bivalentes; el resto de los cromosomas son monovalentes desapareados (Fig. 11A). El análisis meiótico desde la metafase I hasta la formación de las tétradas reveló un promedio de 80,72% de CME con una amplia variedad de comportamientos cromosómicos irregulares (Tabla 3). Entre las irregularidades más comúnmente detectadas se destacan: la presencia de cromosomas no integrados a la placa metafásica (Fig. 11B), los que fueron hallados tanto en la metafase I (82,75%) como en la metafase II (80%), y los cromosomas rezagados en la anafase I y II, en un 85,71% y 85,18%, respectivamente (Fig. 11C,D). Ambas anormalidades son consecuencia de la asincronía en la segregación cromosómica causada por el apareamiento anormal en la profase I. Generalmente los cromosomas no integrados devienen en micronúcleos, los mismos fueron usualmente detectados en la Telofase II (Fig. 11D). Asimismo, en un 85,36% de las CME que alcanzan las etapas finales de la esporogénesis se hallaron tetrásporas malformadas, así como la presencia de tríades y más raramente díades (Fig. 11E). Más del 80% de las esporas fueron anormales (Fig. 11F), generalmente grandes y esféricas en vista lateral (en lugar de la típica forma arriñonada).

Tabla 3. Irregularidades meióticas en el híbrido putativo *Polystichum chilense* x *P.subintegerrimum*, número de células madres de las esporas analizadas en cada estadio (N) y porcentaje de células afectadas

Fases de la meiosis	Irregularidades observadas	N	Porcentaje
Metafase I	6-15 monovalentes y 2-4 bivalentes fuera de placa	29	82,75
Anafase I	Cromosomas rezagados	14	85,71
Telofase I	Puentes entre los núcleos	6	66,67
	Cromosomas no integrados a los núcleos	34	79,41
Metafase II	Monovalentes fuera de placa	10	80
Anafase II	Cromosomas rezagados y puentes	27	85,18
Telofase II	Presencia de micronúcleos	29	89,65
Formación de las esporas	Tetrásporas malformadas, díades y tríades	82	85,36
Total		231	80,72 (% promedio)

Además, se analizaron muestras de un ejemplar [Morero 389 (CORD)] que mostró dimorfismo foliar con hojas similares a las de *Polystichum multifidum* y *P. plicatum* en la misma planta. Los resultados del análisis de las CME y los estadios que fueron posibles observar, se resumen en la Tabla 4. Entre las irregularidades cromosómicas más frecuentes se encuentran los cromosomas fuera de placa en metafase I y la presencia de micronúcleos en telofase II (Fig. 12 A-C). La presencia de tétradas y esporas malformadas se registró en alta frecuencia (81,81%, Fig. 12 D,E). No se pudieron determinar las configuraciones meióticas, pues no se hallaron CME en diacinesis. El recuento de cromosomas mitóticos en este ejemplar reveló que es tetraploide ($4x=2n=164$, Fig. 12 F).

En el material de herbario analizado se determinaron cinco especímenes posiblemente híbridos como *Polystichum chilense* x *P. subintegerrimum* y cuatro ejemplares de *Polystichum multifidum* x *P. plicatum* con base en la morfología de las frondes, esporangios colapsados y elevada proporción de esporas abortadas, signos de

hibridez tal como sugieren algunos autores (Wagner et al. 1986, Barrington et al. 1989, Barrington 1990).

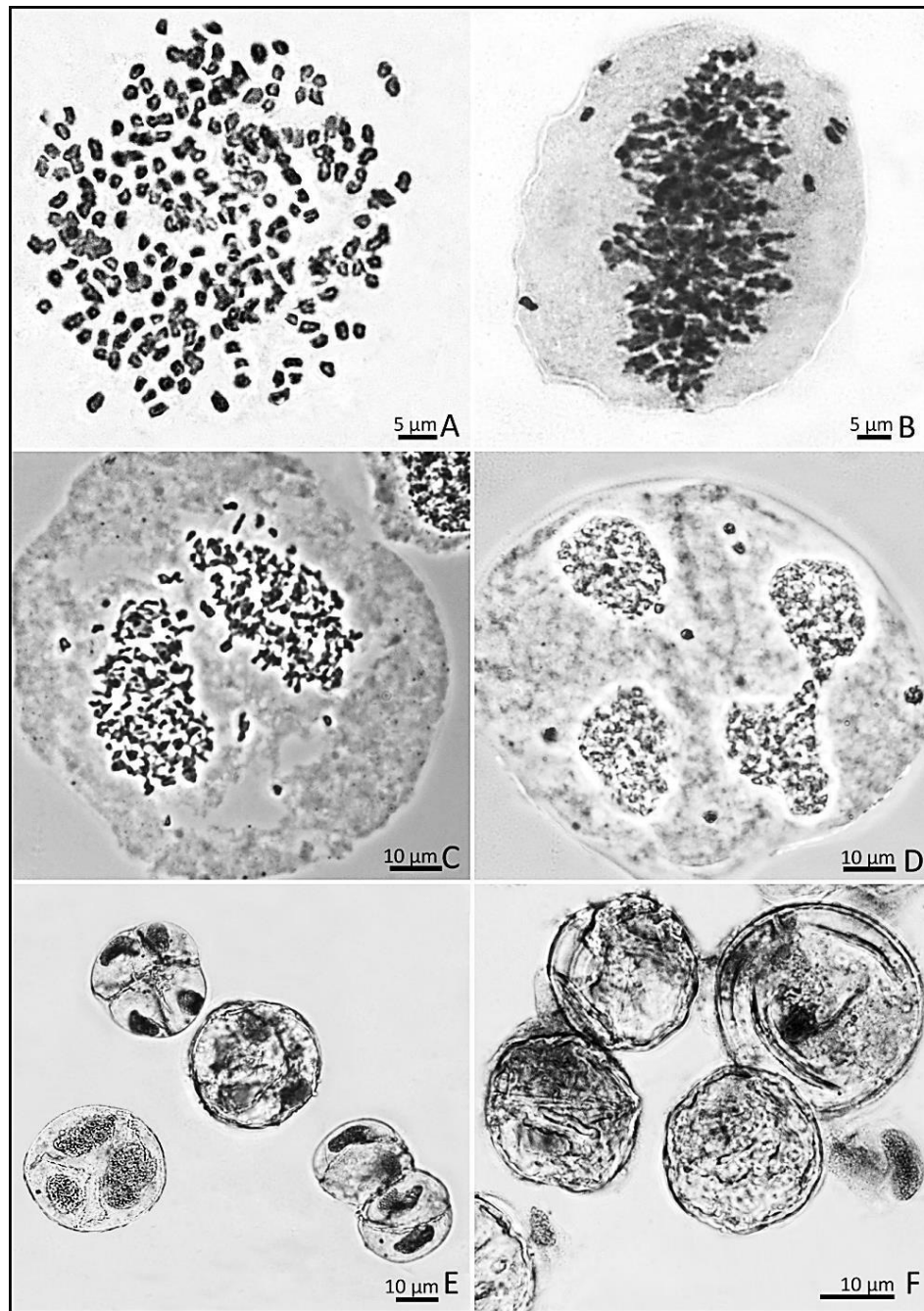


Fig. 11. Células madres de las esporas del híbrido putativo *Polystichum chilense* x *P. subintegerrimum*. **A, B.** Metafase I temprana y tardía, respectivamente. **C.** Anafase I mostrando cromosomas rezagados y no integrados a los núcleos en formación. **D.** Telofase II, se observa un puente y varios micronúcleos. **E.** Tetrásporas malformadas. **F.** Esporas anormales. Morero 386 (CORD).

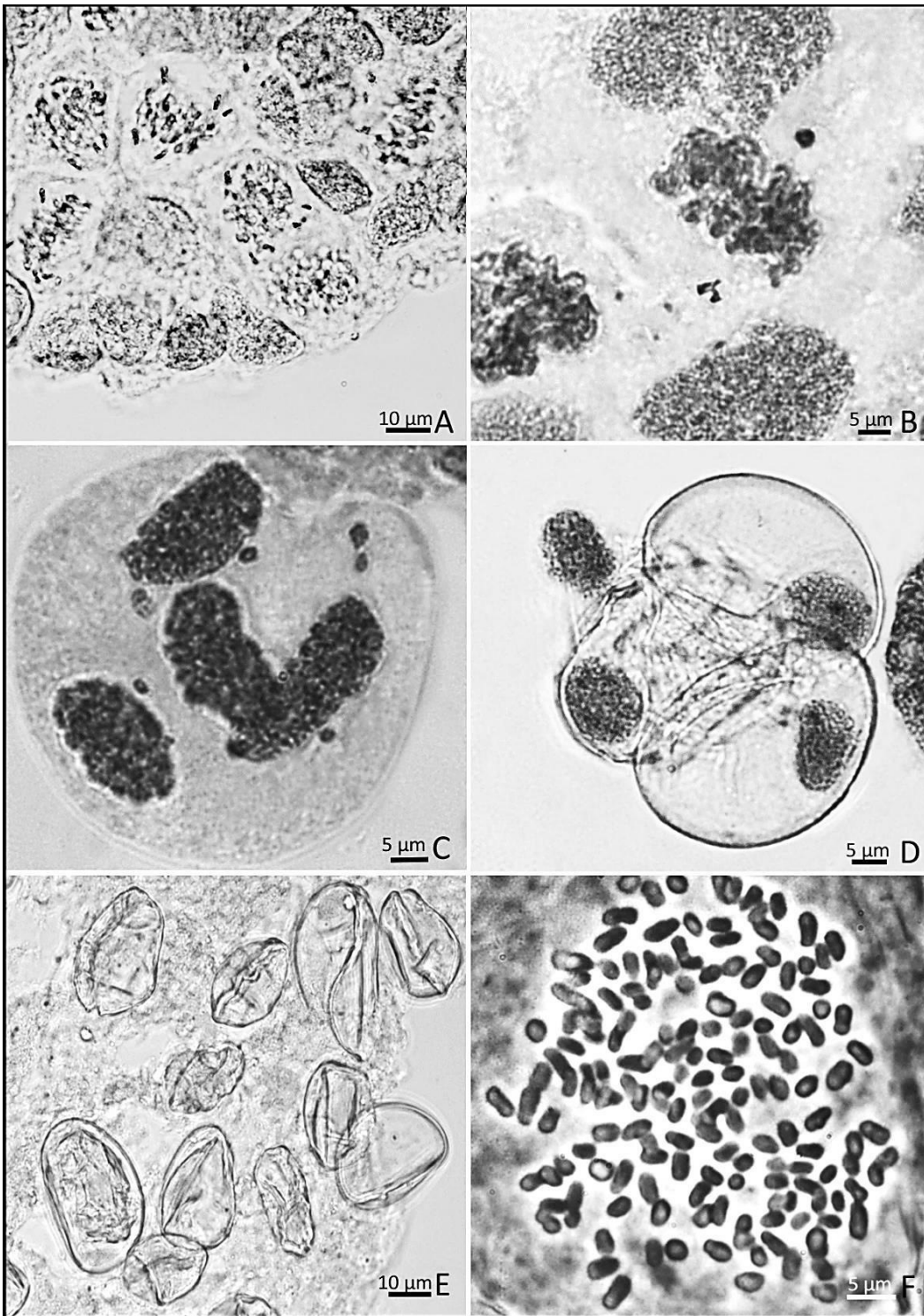


Fig. 12. Células madres de las esporas del híbrido putativo *Polystichum multifidum* x *P. plicatum*. **A,** **B.** Células en metafase I. **C.** Anafase II mostrando la separación anormal de los núcleos y presencia de micronúcleos. **D.** Tétrada malformada. **E.** Esporas abortivas. **F.** Cromosomas somáticos en metafase. Morero 389 (CORD).

Tabla 4. Irregularidades meióticas en el híbrido putativo *Polystichum multifidum* x *P. plicatum*, número de células madres de las esporas analizadas en cada estadio (N) y porcentaje de células afectadas

Fases de la meiosis	Irregularidades observadas	N	Porcentaje
Metafase I	Monovalentes y bivalentes fuera de placa	11	72
Telofase II	Presencia de micronúcleos	10	70
Tetrásporas	Presencia de tetrásporas malformadas, tríades y díades	110	81,81
Esporas libres	Esporas malformadas	98	91,83
Total		229	78,91 (% promedio)

6. Datos citológicos de *Polystichum* en los centros de diversidad

Se recuperaron de la literatura 130 registros citológicos para 116 especies de *Polystichum* (Apéndice 2). Los análisis de datos citológicos permitieron determinar el número de registros para cada nivel de ploidía y al mismo tiempo, estimar la ocurrencia de los niveles de ploidía en los principales centros de diversidad de estas especies (Tabla 5).

Los datos revelan una gran variedad de niveles de ploidía en el género (2x, 3x, 4x, 6x, 8x). De los 14 centros de diversidad propuestos por Barrington & Driscoll (2005), la región de Asia Oriental (que incluye los centros Yunnan y Sino-Japonés), área que corresponde a la de mayor concentración de especies en el mundo, junto con la región del Himalaya, exhiben el mayor número de recuentos citológicos (72).

Del total de las especies con datos citológicos, los taxones diploides (41,54%) y tetraploides (47,69%) son los más frecuentes; asimismo, una estimación del 58,46% del total de las entidades son poliploides.

El género tiene 12 especies (la mayoría de ellas de Asia Oriental) con al menos dos citotipos, siendo la combinación de citotipos diploides y tetraploides dentro de una misma especie, la situación más común (Tabla 5).

DISCUSIÓN

Resultados parciales de este capítulo (números cromosómicos, niveles de ploidía y su relación con el tamaño de las esporas y, la ploidía en cada centro de diversidad de *Polystichum*) fueron publicados recientemente (Morero et al. 2015a).

1. Consideraciones generales sobre los cromosomas mitóticos

Los resultados confirman el número básico de cromosomas $x = 41$ ya mencionado para *Polystichum* (Löve et al. 1977, Kato & Nakato 1999, Lu et al. 2006 a,b, Xiang et al. 2006). Por lo tanto, se corrobora que el número de cromosomas en este género sigue la tendencia de los helechos homosporados, que tienen números de cromosomas básicos mucho más altos que los heterosporados (Klekowski & Baker 1966, Klekowski 1973, Barker & Wolf 2010). Evidencias cariológicas y moleculares han documentado un origen poliploide de la mayoría de los genomas en los géneros de helechos homosporados (Klekowski 1973, Haufler & Soltis 1986, Otto 2007). Sin embargo, aun cuando los helechos homosporados tienen elevados niveles de ploidía y son capaces de endogamia extrema (en la fecundación intragametofítica), se comportan como verdaderos diploides y predomina en ellos la exogamia. Grant (1981) subrayó que las especies poliploides más antiguas (paleopoliploides), a diferencia de los poliploides recientemente formados (neopoliploides), tienden a ser más parecidas en su comportamiento a los diploides. Este proceso es conocido como “diploidización” y afecta tanto el comportamiento citológico como la constitución génica de los poliploides (Soltis et al. 2003).

Tabla 5. Centros de diversidad de *Polystichum* (propuestos por Barrington & Driscoll 2005) con los datos de niveles de ploidía y de los citotipos. Datos basados en las localidades de los especímenes de herbario con recuentos citológicos publicados (sólo uno de los registros ha sido considerado para cada especie con múltiples recuentos reportados para el mismo nivel de ploidía).

Centros de diversidad (n° de especies endémicas/n° de registros cromosómicos)	Número de recuentos cromosómicos					N° de especies con combinaciones de citotipos			
	2x	3x	4x	6x	8x	2x/4x	2x/6x	3x/4x	2x/3x/4x
Norteamericano (11/8)	3		4	1		1			
Maya (13/10)	8		2						
Antillano (27/6)	4		2			1			
Andino (25/4)	3		1			2			
Austral (7/7)			6		1				
Africano (11/9)		1	6	1	1			1	
Australia-Nueva Zelanda (13/13)			11		2				
Papuano (18/1)	1								
Indo-Himalayo (27/20)	10	1	9						
Yunnan (43/19)	8	2	9			4	1	1	1
Sino-Japonés (22/33)	17	3	12	1					
Total	54	7	62	3	4	8	1	2	1
Porcentaje	(41.54)	(5,38)	(47.69)	(2.31)	(3.08)				

A priori, la diploidización favorecería una mayor regularidad en la formación de bivalentes meióticos y de esporas normales, aumentando así la fertilidad de los individuos; al mismo tiempo, la exogamia, producto del cruzamiento entre gametófitos de diferentes parentales, contribuiría a contrarrestar la homocigosis, aumentando la variabilidad genética de las poblaciones (Barker & Wolf 2010). Para el set de taxones estudiados se obtuvo una serie de niveles de ploidía, incluyendo 2x, 4x y 8x, además de un híbrido 6x, resultados similares a los reportados en trabajos anteriores del género (Löve et al. 1977, Wagner 1979, Barrington 1985 a,b,c, 1990, 2003, Tsai & Shieh 1985, Khullar et al. 1988, Fraser-Jenkins 1997, Perrie et al. 2003a). Todos los taxones Australes son tetraploides ($2n=4x=164$), excepto *P. subintegerrimum*, que es octoploide ($2n=8x=ca.328$), mientras que las tres especies andinas *P. montevidense*, *P. pycnolepis* y *P. platyphyllum*, son diploides ($2n=2x=82$). Nuestros resultados de *P. platyphyllum* coinciden con los de Smith & Mickel (1977), quienes reportaron un recuento diploide para *P. platyphyllum* de México. Sin embargo Smith & Foster (1984) obtuvieron un recuento tetraploide de Paraguay para la misma especie. El espécimen argentino de *P. subintegerrimum* que se ha estudiado es octoploide, concordando con el reporte de Jara-Seguel et al. (2006) para una población de Chile (Tabla 1).

Entre las especies de helechos, hay una marcada variación en el rango del tamaño de los cromosomas (0,50-18 μm , Manton 1950, Abraham et al. 1962, Marcon et al. 2003a, 2003b, 2005, Guillén & Daviña 2005). Algunos géneros, como *Psilotum*, se caracterizan por un gran tamaño de los cromosomas (p. ej. *Psilotum nudum* var. *gasa* [$2n=104$]: 4,5-18 μm , Abraham et al. 1962); mientras que, en el otro extremo de la escala, *Azolla* tiene los cromosomas más pequeños (p. ej. *A. pinnata* [$2n=44, 66, 88$]: 0,5 μm , Stergianou & Fowler 1990). Dryopteridaceae está en el medio de este rango (p. ej. *Cyrtogonellum inaequale* [$2n=123$]: 1,88-3,88 μm , *Lithostegia foeniculacea* [$2n=164$]: 2,53-5,50 μm , Lu et al. 2006a; *Dryopteris filix-mas* [$2n=164$]: 3,60-6,58 μm , Ivanova & Piekos-Mirkowa 2003, *Megalastrum spectabile* var. *spectabile* [$2n=82$]: 2,85 μm , Jara-Seguel et al 2006). Los datos previos sobre el tamaño de los cromosomas en otras especies de *Polystichum* son similares a los valores obtenidos para las especies estudiadas (p. ej. *P. fraxinellum*

[2n=123]: 2,25-4,67 μm , Lu et al. 2006a; *P. igaense* [2n=82]: 4,63 μm , Lin et al. 2011; *P. montevidense* [2n=82]: 4-6,45 μm , Condack et al. 2013).

Como cabría esperar, hay una estrecha relación entre los niveles de ploidía y la longitud total del complemento cromosómico, de forma que los valores de longitud cromosómica total acompañan el incremento de los niveles de ploidía. Sin embargo, el tamaño de los cromosomas individuales disminuye cuando aumentan los niveles de ploidía (Tabla 1). Por ejemplo, el promedio del largo de un cromosoma del octoploide *P. subintegerrimum* (2,5 μm) es 3,25 μm menos que en el diploide *P. pycnolepis* (5,75 μm). Es factible suponer que los poliploides tienen la misma cantidad promedio de ADN por genoma básico (Valor-Cx) que sus progenitores diploides, pero hay ejemplos en los que el valor-Cx tiende a disminuir con el aumento de ploidía (Leitch & Bennett 2004; Bennett & Leitch 2011); este es el caso del fenómeno conocido como "reducción del genoma" (= genome downsizing). Si la longitud total de los cromosomas (en el núcleo haploide) se correlaciona positivamente con el valor-C (Nagl & Ehrendorfer 1974, Dimitrova y Greilhuber 2000, Levin 2002, Garnatje et al. 2004), la reducción en la longitud de cada cromosoma individual en las series poliploides de *Polystichum* puede ser interpretado como una reducción del genoma. Esta situación, más prominente en las familias de Angiospermas que en helechos (Bennett & Leitch 2001), puede tener un considerable significado biológico: Ozkan et al. (2003) argumentaron que la reducción podría ser una adaptación necesaria para el establecimiento y la estabilización de los genomas poliploides. Además, Leitch et al. (2005) sugirieron que la reducción del genoma podría ser una respuesta biológica generalizada a la poliploidía, que lleva a la diploidización de los genomas poliploides.

Dart et al. (2004) indicaron que los cambios en el contenido promedio de ADN después de la poliploidización podrían ser causados por la pérdida o ganancia de cromosomas enteros o por cambio en el tamaño de los cromosomas. En este estudio no se ha verificado la pérdida de cromosomas, pero si se observó una reducción de la longitud de los cromosomas individuales en poliploides respecto de los diploides, hecho que

probablemente afecte el tamaño del genoma. Sería necesario cuantificar el valor-C (e inferir el valor-Cx) en toda la serie poliploide de *Polystichum* estudiados, para probar esta afirmación.

La identificación morfológica de los cromosomas fue difícil por la ubicación poco clara de los centrómeros. Sin embargo, fueron observados con frecuencia constricciones secundarias (especialmente en *P. platyphyllum* y *P. pycnolepis*) pero su número variaba entre las células de un mismo individuo. Esta variación puede ser determinada por el nivel de transcripción, el número genes ribosomales, o el estado de condensación de la cromatina (Warburton & Henderson 1979, Von Kalm & Smyth 1984, Medina et al. 1986).

2. Inferencias sobre la biología reproductiva, hibridación y poliploidía

La presencia de 32 esporas por esporangio es un indicio de apogamia (formación de un nuevo esporófito a partir de células vegetativas del gametófito). Este tipo de reproducción asexual es particularmente importante en los híbridos triploides estériles que están a menudo en desequilibrio en la meiosis, aunque algunas especies también están representadas por citotipos viables (Manton, 1950). En nuestro caso, todas las especies presentaron 64 esporas por esporangio, lo que sugiere que éstas serían poliploides antiguos con reproducción sexual normal (Gastony 1991; Werth & Windham 1991; Soltis & Soltis 1999). La presencia de configuraciones meióticas bivalentes en las meiosis de las especies Australes avala esta presunción.

La mayoría de las especies mostraron un porcentaje reducido (aprox. 10 %) de esporas irregulares; así, se infiere que presentan reproducción sexual normal ya que es de esperar que las especies normales evidencien alguna proporción de esporas defectuosas, probablemente debido a la determinación genética o a las condiciones ambientales (Wagner et al. 1986). Sin embargo, los especímenes de herbario examinados de *Polystichum plicatum* y *P. subintegerrimum* mostraron una proporción mayor de esporas abortivas (ca. 25 %). Contrariamente a este hecho, el comportamiento meiótico analizado en especímenes vivos de *P. plicatum*, no mostró anomalías frecuentes. En el caso de *P.*

subintegerrimum, no se pudo examinar el comportamiento meiótico, pudiéndose atribuir la mayor producción de esporas abortivas a eventos recientes de alopoliploidización.

A nivel de especies, un estudio previo (Morbelli 1980) llegó a la conclusión de que las mediciones de esporas no eran útiles para distinguir algunas especies de *Polystichum* de la Patagonia. Sin embargo, encontramos diferencias significativas entre los taxones estudiados; sólo cuatro especies presentan tamaño de las esporas similares. Por lo tanto, dentro de cada nivel de ploidía, el tamaño de las esporas resultó un carácter diagnóstico para el reconocimiento de las especies (Morero et al. 2015).

También se han hallado diferencias significativas en el tamaño de las esporas entre los niveles de ploidía. El tamaño de las esporas es significativamente más pequeño en individuos 2x, intermedio en los 4x, y más grande para 8x. Por lo tanto, el nivel de ploidía se relaciona con el tamaño de las esporas: cuanto mayor es el nivel de ploidía, mayor es el tamaño de esporas (Manton 1950; Tryon & Lugardon 1990). Sin embargo, el tetraploide *P. andinum*, que tiene los valores más altos para el tamaño de las esporas, no se ajusta a esta relación. De hecho, aunque hay una tendencia general en la que el tamaño de las esporas está relacionado con el nivel de ploidía, la relación no es estricta: el tamaño de las esporas puede verse influido no sólo por el nivel de ploidía, sino también por la biología reproductiva y los factores ambientales (Barrington et al. 1986).

En general, las tres especies andinas (*Polystichum montevidense*, *P. platyphyllum* y *P. pycnolepis*) presentaron únicamente asociaciones con la configuración 41 II, lo que evidencia apareamiento normal y segregación cromosómica regular. De forma semejante, los tetraploides Australes: *P. andinum*, *P. plicatum* y *P. tetragonum*, sólo mostraron diacinesis con bivalentes. En el caso de *P. multifidum*, además de la presencia de los bivalentes, algunas configuraciones meióticas podrían considerarse multivalentes, aunque la calidad de los preparados no permite ratificarlo.

A partir del análisis del apareamiento meiótico se pueden realizar algunas inferencias sobre la naturaleza de la poliploidía en las especies tetraploides. El apareamiento meiótico regular en *P. andinum*, *P. plicatum* y *P. tetragonum* es indicativo de

la presencia de dos tipos de genomas parentales divergentes y de *loci* génicos con herencia disómica, estas características evidencian su naturaleza alopoliploide (Soltis & Soltis 2000). Los alotetraploides se originan por un proceso de hibridación interespecífica seguida de duplicación cromosómica, consecuentemente los cromosomas usualmente segregan como bivalentes (Soltis & Soltis 2000). En tanto, la presencia de asociaciones multivalentes en *P. multifidum* sería una manifestación citológica de cierto grado de homología entre los 4 sets de cromosomas. Según Sleep (2014), no se han reportado asociaciones multivalentes en *Polystichum*; sin embargo, la misma autora, basándose en el examen de fotografías de las meiosis de *Polystichum* híbridos triploides y tetraploides de Japón (Daigabo 1974) considera muy probable la presencia de multivalentes en algunas células; la presencia de estas asociaciones sería evidencia de genomas duplicados, sugiriendo que los *Polystichum* de Japón, a diferencia de sus congéneres de Europa y América del Norte, tendrían un origen autopoliploide. En el género *Osmunda*, Manton (1950) obtuvo artificialmente plantas autotetraploides (con cuatro genomas idénticos), cuyas meiosis muestran porcentajes de asociaciones multivalentes (tri- y tetravalentes) significativamente superiores a las que aquí se reportan. Por lo tanto, en *P. multifidum* las bajas frecuencias de multivalentes y las altas de bivalentes serían evidencias de una homología parcial, denominada alopoliploidía segmentaria (Guerra 2000).

La fertilidad de un individuo depende, en parte, de la eficiencia del proceso meiótico. En las especies tetraploides, y con mayor frecuencia en *P. multifidum*, se detectaron varias irregularidades meióticas, que incluyen cromosomas fuera de placa y núcleos, cromosomas rezagados en la anafase y formación anormal de tetrásporas. Algunos autores (Stebbins 1947, Manton 1950, Ramsey & Schemske 2002, Comai 2005, Cifuentes et al. 2010) afirman que estas aberraciones suelen afectar la fertilidad de los autopoliploides y alopoliploides segmentales ya que los univalentes y multivalentes en ellos presentes, tienen una segregación cromosómica irregular durante la meiosis, que da lugar a esporas cromosómica- y genéticamente no balanceadas. Sin embargo, Guerra (2000) analizando los datos acumulados en la literatura de poliploides inducidos, que fueron investigados por sus comportamientos en meiosis durante varias generaciones,

concluye que la meiosis y la fertilidad en autoploiploides no es menos efectiva que en los aloploiploides. En los tetraploides analizados, las anomalías meióticas se han registrado en bajos porcentajes, como así también la proporción de esporas abortivas; al ser la producción de esporas en un helecho homosporado muy alta (una estimación de 100 millones por año en un individuo de *Dryopteris filix-mas*, Schneller 1979), es de esperar que la fertilidad no se vea reducida y consecuentemente el éxito reproductivo de las especies aquí estudiadas esté garantizado.

La morfología intermedia entre los parentales, las esporas abortivas y los datos citológicos, como el número de cromosomas y el comportamiento en la meiosis, son criterios muy utilizados en *Polystichum* para reconocer los híbridos y las especies progenitoras (Manton 1950, Barrington et al. 1989, Barrington 1990). Los datos citológicos revelan que el ejemplar Morero 386 (CORD) colectado en Villa La Angostura (Neuquén) con morfología intermedia entre *Polystichum chilense* (4x) y *P. subintegerrimum* (8x) es un hexaploide. Este espécimen, presuntamente estéril, exhibe múltiples irregularidades meióticas que ocasionan la formación de tetrásporas y esporas abortivas, en un 85,36% de las células analizadas.

A la par, aberraciones semejantes se detectaron en el análisis citológico del ejemplar tetraploide Morero 389 (CORD), colectado en la misma área geográfica. Esta planta, probablemente estéril, presenta frondes similares a las de *Polystichum multifidum* (4x) y *P. plicatum* (4x). Aunque en este último caso, no se obtuvieron diacinesis que permitieran conocer el apareamiento cromosómico, los antecedentes citológicos anteriormente mencionados dan cuenta de la falta de homología entre los genomas parentales y constituyen evidencias para sustentar la hipótesis de la naturaleza híbrida de estas plantas. Numerosos estudios sobre híbridos en *Polystichum* documentan irregularidades meióticas similares a las aquí observadas (Manton 1950, Barrington et al. 1989, Barrington 1990, Lin et al. 2011).

La hibridación es más probable cuando las especies se encuentran juntas (Vida & Reichstein 1975), los híbridos putativos y sus parentales, que se reportan aquí por primera

vez, comparten el mismo lugar, por lo cual la proximidad geográfica facilitaría los eventos de hibridación que son relativamente frecuentes en *Polystichum*.

La coincidencia de morfología intermedia, aberraciones cromosómicas y esporas abortivas son signos de hibridación en los helechos homospóreos y, particularmente, en *Polystichum* (Wagner et al. 1986). Serían necesarios nuevas colecciones de plantas híbridas y estudios citológicos y morfométricos complementarios para corroborar las hipótesis de hibridación aquí propuestas.

3. Algunas consideraciones sobre la ploidía en *Polystichum*

La revisión de la literatura citológica de *Polystichum* documenta la alta frecuencia de poliploides, siendo los tetraploides los más frecuentes. Los niveles más altos de ploidía (6x y 8x), así como los triploides, son raros. En todos los casos, los triploides comparten el mismo centro de diversidad con las especies diploides y tetraploides relacionadas (excepto en el centro de África), como es de esperar si los híbridos triploides se originaron en las zonas de contacto de los parentales diploides-tetraploides (Tabla 5).

Los niveles de ploidía parecen no estar distribuidos al azar, sino que siguen un cierto patrón: la región del Este de Asia (representada por los centros de Yunnan y Sino-Japonés) y la región del Himalaya, tienen mayor proporción de diploides (48,61%) que de tetraploides (41,67%); un modelo similar siguen las especies de los centros Maya, Antillas y los Andinos. Por el contrario, no hay registros diploides para los centros de Australia-Nueva Zelanda, África y el Austral. Los centros de diversidad de Australia-Nueva Zelanda y Austral, además de compartir una relación histórico-florística (Rodríguez R. 1989, Ponce et al. 2002) tienen un patrón similar de ploidía caracterizado por tener especies tetraploides, con sólo uno o dos octoploides.

Entre los *Polystichum* Australes no hay especies diploides; en cambio, ellas son frecuentes entre los taxones Andinos, lo que implica una diferencia en la biología reproductiva y en la historia evolutiva de estos dos grupos. No obstante, del total de las especies andinas (ca. 25 spp.) sólo seis se han estudiado citológicamente, tres de ellas son

diploides endémicas de América del Sur: *P. sodiroi* (Löve et al. 1977), *P. pycnolepis* (reportado en este trabajo) y *P. montevidense* (Condack et al. 2013). Las tres especies restantes, ampliamente distribuidas en América tropical son *P. dubium* (2x, Wagner 1980), *P. orbiculatum* (4x, Barrington 1990) y *P. platyphyllum*, con dos citotipos (2x, Smith & Mickel 1977; 4x, Smith & Foster 1984). Consecuentemente, para inferir acerca de las diferencias en los procesos de especiación de ambos grupos, serían necesarios más recuentos en las especies andinas cuyos números cromosómicos se desconocen en su mayoría.

El caso de *P. tetragonum* merece especial atención. Esta especie tetraploide es la única representante del género en las Islas Juan Fernández, un pequeño archipiélago situado en el Océano Pacífico, a \pm 670 km al oeste de la costa chilena. A pesar de su restringida y aislada distribución, este endemismo se ajusta al patrón de ploidía de los *Polystichum* Australes. En este sentido, si se tiene en cuenta la proximidad del archipiélago Juan Fernández con la masa continental y su origen geológico reciente, sumado a la presencia de especies tetraploides continentales, es muy probable que en el proceso de especiación de este taxón no acontecieran nuevos eventos de duplicación cromosómica, tal como ha ocurrido con la mayor parte de los endemismos poliploides de Juan Fernández, que han evolucionado al mismo nivel de ploidía que sus congéneres poliploides del continente (Stuessy et al. 1990).

Por otra parte, la estabilidad en el nivel de ploidía ($2n = 164$) podría estar relacionada con la hipótesis de “estasis cromosómica”, que hace referencia a los pocos cambios cromosómicos que ocurren durante la evolución de los taxones endémicos de islas oceánicas (Crawford et al. 1992, 1998). Las explicaciones de este fenómeno incluyen bajos niveles de hibridación debido al aislamiento reproductivo, cortos períodos de tiempo geológico y la selección en contra de nuevos citotipos que podrían alterar las características que permitieron la adaptación exitosa al nuevo hábitat insular (Sanders et al. 1983, Carr 1998, Stuessy & Crawford 1998).

La poliploidización y la hibridación, fenómenos frecuentes en el género, se han documentado por primera vez para los *Polystichum* Australes. El patrón de ploidía de este grupo, lo diferencia del clado Andino y, a la par, lo vincula con los *Polystichum* de África, Australia y Nueva Zelanda. Los análisis cromosómicos ofrecen por sí solos una visión limitada de la evolución de los genomas en diferentes niveles taxonómicos, por lo cual es menester combinarlos con otros estudios, como pueden ser las filogenias moleculares. Ambos enfoques tienen sus propias ventajas y limitaciones, pero combinados pueden ofrecer una comprensión más precisa de la evolución genética de las especies. Consecuentemente, con la finalidad de inferir las tendencias evolutivas en *Polystichum*, se realizaron reconstrucciones de los estados ancestrales de diferentes caracteres, entre ellos, se estimaron los cambios evolutivos más probables de los niveles ploidía en el género, que pueden observarse en el Capítulo III.

Asimismo, sería necesario contar con un mayor número de análisis cromosómicos en los *Polystichum* Andinos y Brasileños para profundizar el conocimiento de los mecanismos de especiación que han ocurrido en la diversificación de las especies sudamericanas.



CAPÍTULO II.VARIABILIDAD MORFOLÓGICA

INTRODUCCIÓN

Los helechos deben su particular atractivo a las hojas, que exhiben una gran diversidad de formas, diseños, coloración y tamaño. Los morfólogos y taxónomos han aprovechado esta variabilidad de las frondes y rizomas, como así también diferencias en las estructuras reproductivas (indusios, esporas) y en los caracteres anatómicos, para comparar y delimitar familias, géneros y especies (Ogura 1972, Lin & DeVol 1977, 1978, Moran 1987, Gifford & Foster 1989).

En la familia Dryopteridaceae, los atributos morfo-anatómicos han permitido diferenciar taxones a nivel genérico, aún en el caso de géneros estrechamente afines como *Polystichum*, *Arachnoides* y *Dryopteris*, que forman un grupo informal denominado “helechos polisticoides” (Wagner WH 1985, Roux & Van Wyk 2000). A nivel genérico, *Polystichum* cuenta con estudios sobre la morfología y anatomía de especies representativas de Asia (Chandra 1977, Khullar & Gupta 1979, Chandra & Nayar 1982), África (Roux & Van Wyk 2000, Roux 2000, 2001, 2004) y Norteamérica (Wagner 1979). Sin embargo, no hay trabajos anatómicos de las especies sudamericanas y la morfología ha sido abordada parcialmente en el contexto de las floras de diferentes regiones y países. Los trabajos anatómicos en *Polystichum* han empleado caracteres diagnósticos de diferentes órganos del esporófito; así, en la lámina se consideran atributos importantes para distinguir especies, las escamas, la superficie y margen del indusio; en los pecíolos y rizomas, es especialmente significativo investigar la vascularización, teniendo en cuenta el número, forma, arreglo y configuración de las meristelas (Roux 2004). Asimismo, dos clases de estructuras aeríferas que aparecen sobre la superficie externa de los pecíolos: las líneas de aireación y los aeróforos (llamados colectivamente pneumatóforos), comunes en Dryopteridaceae, pueden aportar información útil para distinguir taxones en *Polystichum* (Lin & DeVol 1977, 1978).

En muchos casos, la taxonomía tradicional basada solamente en la morfología y anatomía, no permite resolver la delimitación de especies en *Polystichum* debido a la escasez de sinapomorfías fenotípicas y a la convergencia de caracteres morfológicos. Las

especies Australes no escapan a esta problemática, por ello cuentan con una controvertida sinonimia y nombres de dudosa validez. Las decisiones taxonómicas a nivel de especies próximas resultan particularmente dificultosas, ya que por lo general no es posible detectar caracteres cualitativos que permitan diferenciarlas; en cambio, las variaciones en datos morfométricos continuos, pueden ayudar a resolverlas. El análisis de este tipo de datos empleando técnicas multivariadas de ordenación puede contribuir a esclarecer con rigurosidad estadística, la distinción taxonómica de las especies (Mangeaud 2004).

Con base en estos antecedentes, los **objetivos** de este capítulo son:

1. definir caracteres anatómicos y morfológicos cualitativos que aporten una evidencia consistente para la delimitación de los taxones;
2. proporcionar una revisión de los límites de las especies de los *Polystichum* Australes basados en métodos de ordenación multivariados de datos morfométricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Estudio de caracteres morfológicos y anatómicos

Se realizaron observaciones de la morfología externa, a ojo desnudo o mediante microscopio estereoscópico Carl Zeiss Universal, acompañadas de las mediciones (diámetro, ancho y largo) de cada órgano. Se analizaron los nueve taxones del grupo Austral y adicionalmente, a los fines comparativos, se estudiaron dos especies del grupo Andino (*Polystichum montevidense* y *P. pycnolepis*). Los ejemplares fueron obtenidos de poblaciones colectadas a campo y cultivadas en el invernáculo de la Fac. de Cs. Exactas Físicas y Naturales (UNC); los datos de colección se detallan en la Tabla 1 y Apéndice 4 (para *P. multifidum* var. *pearcei*).

Para el análisis de los microcaracteres se realizaron estudios anatómicos utilizando dos frondes maduras por individuo y el rizoma. Se emplearon las técnicas siguientes:

1.1. Preparaciones histológicas: para comparar la organización de los tejidos en los diferentes órganos vegetativos se realizaron preparaciones histológicas permanentes de cortes transversales del rizoma, pecíolo (porción basal y apical) y de las pinnas medias o de sus últimas divisiones. En material previamente fijado en FAA (formol, alcohol etílico y ácido acético, en proporción 3:1:1) se aplicaron las técnicas clásicas de deshidratación, inclusión en histoplast, cortes microtómicos de 10 a 14 μm , triple coloración y posterior montaje con bálsamo de Canadá (Johansen 1940, D'Ambroggio d'Argüeso 1986).

1.2. Preparados semipermanentes: para observar las células vivas e identificar organoides (cloroplastos, núcleos) y contenidos celulares (cristales, almidón etc.) se efectuaron cortes a mano alzada de todos los órganos en material fresco, algunos de los cortes se montaron y observaron directamente sin tinción previa; el resto de los cortes fue examinado después de proceder a su diafanizado y coloreado, siguiendo la técnica de Dizeo de Strittmater (1973). Para evidenciar paredes celulares y contenidos se efectuaron pruebas histoquímicas mediante la técnica de coloración directa, utilizando los siguientes colorantes: safranina (paredes celulares), sudán III y IV (lípidos), lugol (almidón), cloruro férrico (fenoles) y fluoroglucina clorhídrica (lignina); a posteriori se realizó el montaje en glicerina acuosa al 50% (Sandoval Zapotitla 2005, Zarlavsky 2014).

1.3. Extendidos de epidermis: para observar las células epidérmicas propiamente dichas, apéndices epidérmicos (pelos y escamas) y estomas (tipos y tamaño), se obtuvieron las epidermis de rizomas y frondes (pecíolo, raquis y pinnas o pínulas) por desprendimiento del material vivo o en FAA y posterior diafanizado con hipoclorito de sodio al 30% o hidróxido de sodio al 3%, durante aproximadamente 5 minutos, posteriormente se colorearon con safranina y azul astral, montándose en glicerina al 50%.

1.4. Análisis del tamaño de los estomas y células epidérmicas: A los fines de comparar el tamaño de los estomas y las células epidérmicas propiamente dichas de la lámina, entre los diferentes taxones, se hicieron 15 mediciones o conteos por carácter señalado por individuo, con la ayuda del programa ImageJ. Únicamente se sintetizan los valores cuantitativos a través de la media, debido a que el número de muestras fue escaso

y no permitió realizar ningún análisis estadístico. Para la tipología de los estomas, se utilizó la clasificación de Van Cotthem (1973) y Sen & De (1992). La terminología utilizada se basó en la literatura revisada para helechos (Ogura 1972, Van Cotthem 1973, Lin & DeVol 1977, 1978, Lellinger 2002). Los dibujos se realizaron con cámara clara y las fotomicrografías se tomaron con un microscopio óptico Axiophot Zeiss.

2. Análisis de caracteres morfométricos

2.1. Selección de caracteres

Para analizar las variaciones en los caracteres morfométricos se seleccionaron 7-13 especímenes, de herbario o colectados a campo, representativos de cada taxón de los *Polystichum* Australes, recolectados a lo largo de la distribución geográfica (Apéndice 3), con excepción de *P. multifidum* var. *pearcei*, pues no se contó con número suficiente de ejemplares para este análisis. La elección de caracteres se basó en trabajos previos del género (Little & Barrington 2003, Conrack et al. 2013). Se usaron plantas secas, porque los estados de los caracteres pueden presentar cambios significativos cuando están frescos. Las mediciones se hicieron sobre la fronde fértil más grande de cada individuo. Se analizaron un total de 77 individuos y se computaron o midieron 13 caracteres cuantitativos (10 continuos y 3 discretos), que se detallan en la Tabla 6.

2.2. Análisis estadísticos

Con la matriz obtenida (Apéndice 3), se realizaron análisis preliminares que consistieron en gráficos de cajas (Box-plot) para identificar los datos anómalos (outliers) y una matriz de correlación de los caracteres. A partir de la matriz de correlación se descartaron las variables que estuvieran altamente correlacionadas entre sí (más de 0,7). Con las variables seleccionadas (Tabla 6, en negrita) se realizó un análisis de Componentes Principales (ACP) a fin de conocer el ordenamiento de los individuos entre los grupos taxonómicos analizados, en función de las variables seleccionadas. Además se efectuó un análisis discriminante canónico para variables métricas (ADL), con el fin de identificar qué variables permiten diferenciar mejor los grupos taxonómicos y cuántas de estas variables

son necesarias para alcanzar la mejor clasificación posible. Este análisis fue llevado a cabo con el mismo set de datos que se empleó para realizar el ACP. Tanto el ACP como el ADL, se implementaron con el Software Infostat Versión profesional (Di Rienzo et al. 2011).

Tabla 6. Caracteres morfológicos cuantitativos empleados en los análisis multivariados. En negrita, los caracteres seleccionados a partir del análisis de correlación

Variables	
1	Ancho escama base pecíolo mm
2	Ancho lámina sector basal mm
3	Ancho lámina sector medio mm
4	Ancho pinna media mm
5	Distancia entre pinnas mm
6	Longitud escama base del pecíolo mm
7	Long. fronde cm
8	Long. lámina cm
9	Longitud pinna basal mm
10	Long. pinna media mm
11	N° pares pinnas
12	N° pares de pínulas
13	N° pinnas fértiles

RESULTADOS

1. Micro- y macrocaracteres morfológicos

Se analizó la morfología externa y la anatomía del rizoma y frondes de los nueve taxones de *Polystichum* del grupo Austral y dos especies del grupo Andino (*P. montevidense* y *P. pycnolepis*) (Tabla 1). A continuación, se describen los resultados para cada órgano. La caracterización morfológica se realiza aquí en forma general, y más detalladamente, se describe para cada especie en el capítulo Taxonomía (Capítulo IV).

1.1. Rizoma

El rizoma es cilíndrico, erecto, a veces algo ascendente o decumbente; puede ser delgado como en *P. andinum* (2-4 mm de diám.) o más desarrollado, como en *P. chilense*, *P. multifidum* y *P. tetragonum* (10-30 mm de diám.) (Fig. 13 A,B). En los últimos mencionados, los individuos más viejos forman un pequeño tronco con las bases de los pecíolos viejos que los rodean, llegando el conjunto a medir hasta 35 cm de altura y 10-15 cm de diám. En *P. andinum* y *P. mohrioides*, el rizoma es decumbente, generalmente largo, ramificándose lateralmente (Fig. 13 A). El resto de las especies tienen rizomas erectos, a veces ascendentes, no ramificados (Fig. 13 B). De los rizomas, se originan raíces adventicias que se ramifican formando densas masas fibrosas y se extienden profusamente, alcanzando los 30 a 40 cm de longitud. En los taxones analizados, los transcortes de rizoma muestran una epidermis que consiste en un solo estrato de células morfológicamente similares y, a diferencia del resto de los órganos de la planta, carece de cutícula. Los estomas están ausentes o escasamente representados, son evidentes en los rizomas jóvenes de *Polystichum plicatum* y *P. montevidense*, ubicándose a ambos lados del órgano y constituyendo las denominadas “líneas respiratorias”. Estas líneas se continúan en los laterales de pecíolos y raquis.

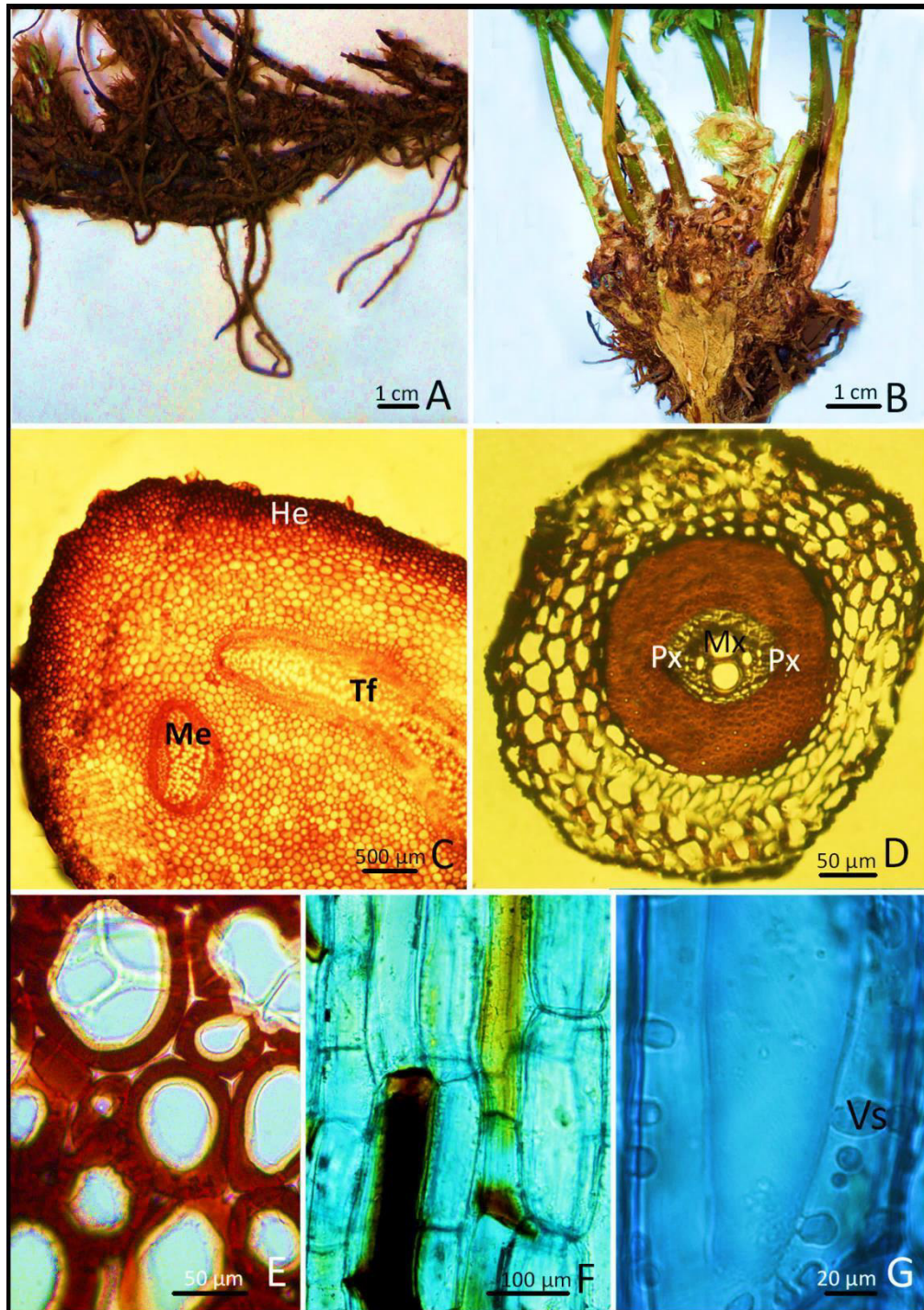


Fig. 13. Rizoma. A, C, D. *P. andinum*, A. Rizoma decumbente, vista lateral. **C.** Rizoma en transcorte. **D.** Raíz diarca en transcorte. **B. *P. plicatum*,** rizoma en corte longitudinal, tipo erecto. **E-G. *P. montevidense*, E.** Parénquima medular en transcorte mostrando células con paredes engrosadas y pigmentadas. **F.** Vista lateral de las células parenquimáticas mostradas en **E**, exhibiendo la deposición de los pigmentos de la pared. **G.** Célula parenquimática del tejido mostrado en **F** con vesículas secretoras probablemente involucradas en el engrosamiento y pigmentación de la pared celular. He, hipodermis esclerenquimatosa; Me,meristela; Mx, metaxilema; Px, protoxilema;Tf, traza foliar; Vs, vesícula de secreción.

Los apéndices epidérmicos observados más frecuentemente son las escamas, las que generalmente se solapan e imbrican, cubriendo casi totalmente el área superficial del rizoma. Las escamas rizomáticas varían en la coloración, margen, forma, tamaño y presencia de pelos glandulares, entre las distintas especies (Figs. 14 y 15 y descripciones por especie), no se observaron diferencias en las escamas e indusios entre las variedades de *P. multifidum* y las de *P. chilense*.

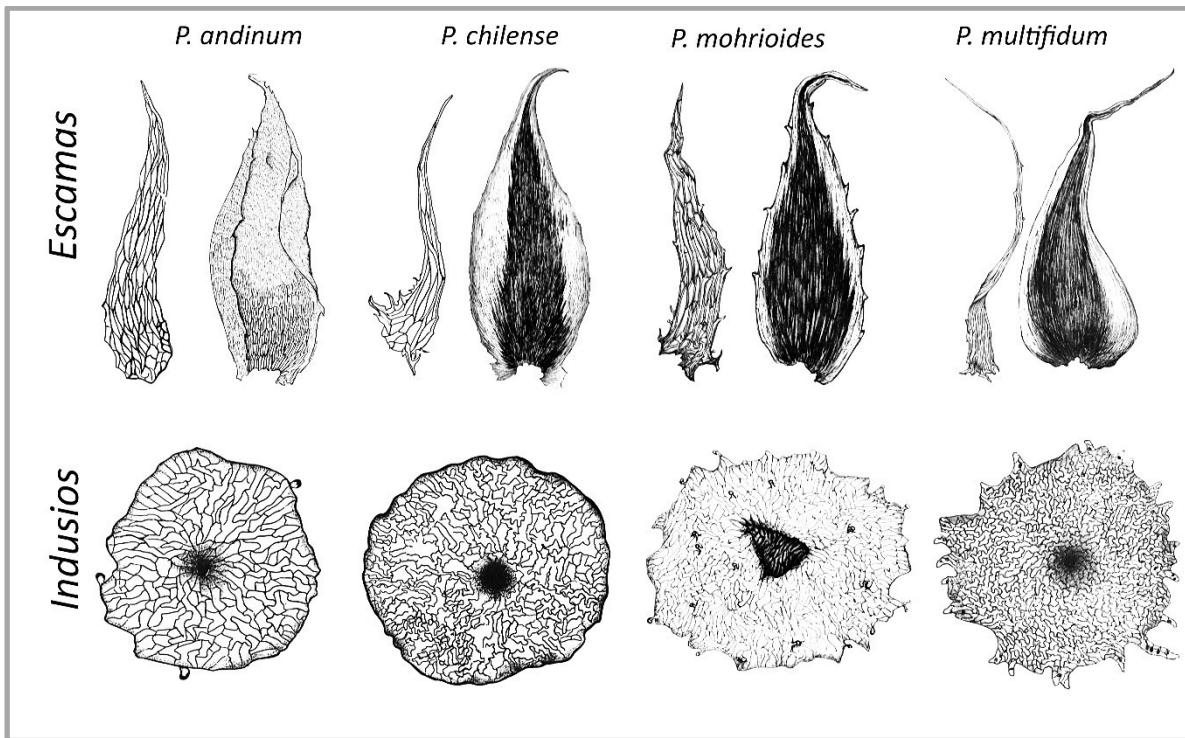


Fig. 14. Diversidad de escamas e indusios en *Polystichumandinum*, *P. chilense*, *P. mohrioides* y *P. multifidum*. Nótese el indusio con las pequeñas glándulas en *P. andinum* y *P. mohrioides*. Para cada especie, la escama de la derecha es del pecíolo y la izquierda es del raquis. Las escamas e indusios no están en tamaños proporcionales.

En los rizomas, el tejido epidérmico constituye una lámina superficial cuya continuidad se ve interrumpida por las numerosas bases de los pecíolos que generalmente persisten durante toda la vida de la planta, por esta razón resultó dificultoso obtener buenos extendidos de epidermis en estos órganos.

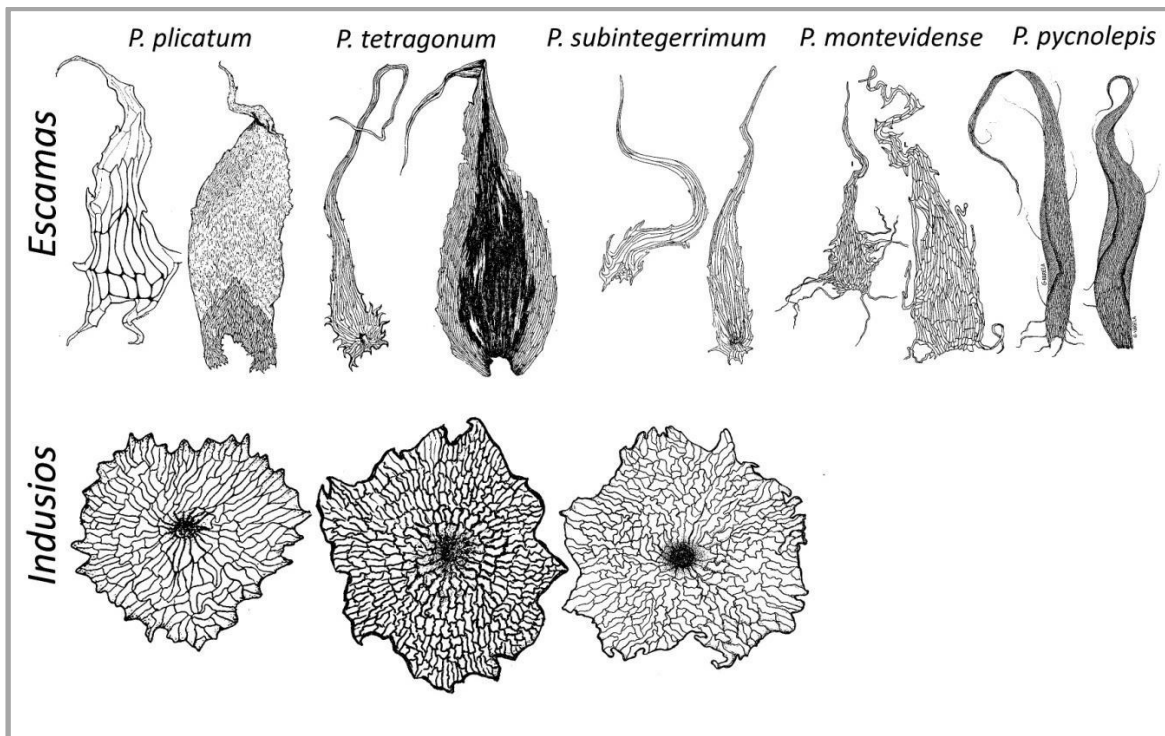


Fig. 15. Diversidad de escamas e indusios en los *Polystichum* Australes (*P. plicatum*, *P. tetragonum* y *P. subintegerrimum*) y de escamas en las especies Andinas (*P. montevidense* y *P. pycnolepis*). En cada especie, la escama de la derecha es del pecíolo y la izquierda es del raquis. Las escamas e indusios no están en tamaños proporcionales.

La organización interna de los tejidos del rizoma es similar en todos los taxones. Por debajo de la epidermis se encuentra tejido fundamental que constituye la mayor parte de la corteza (externa) y la médula (interna), entre ambas se presentan las meristelas, generalmente de 2-8. En las capas más externas de la corteza se diferencia una hipodermis esclerenquimatosa constituida por células con paredes engrosadas y lignificadas (Fig. 13C). La zona más interna de la corteza y la médula, están conformadas por varias capas concéntricas de tejido parenquimático con función de relleno y de reserva, observándose la presencia de abundantes granos de almidón. En los rizomas y pecíolos de *P. plicatum*, *P. tetragonum*, en las variedades de *P. chilense* y *P. multifidum*, y también en la especie andina *P. montevidense*, son frecuentes y observables a ojo desnudo, pequeñas manchas oscuras, de 1-2 mm de diámetro. Éstas corresponden a

células parenquimáticas, aisladas o en grupos, que exhiben paredes engrosadas y pigmentadas de color pardo-anaranjado o pardo rojizo oscuro, hasta negro, coloración que puede alcanzar el lumen celular (Fig. 13E-G). La prueba histoquímica con cloruro férrico reveló que se trata de un compuesto fenólico. El pigmento responsable fue reportado como “flobafene”, una sustancia formada a partir de los taninos por oxidación y condensación (Sporne 1962, Ogura 1972).

La estructura de la estela corresponde, en todos los casos analizados, a una dictiostela. El diámetro de las meristelas es de 1-2 mm y el número varía de 2-3 en *Polystichum andinum* y *P. mohrioides*, y de 4-8 en el resto de las especies, sin contar las trazas o rastros menores que divergen a los pecíolos y raíces (Fig. 13C).

Las raíces, que son enteramente adventicias (se originan del rizoma), exhiben una notable uniformidad en su anatomía. Son protostélicas, del tipo diarca (xilema primario en el centro de la raíz con dos brazos opuestos) y, exarcas (protoxilema en el extremo de los brazos y maduración de los vasos hacia adentro de la raíz, donde se observan los vasos del metaxilema más recientemente formados) (Fig. 13D).

La organización de las meristelas será explicada con más detalle en la anatomía del pecíolo.

1.2. Fronde

Todas las especies estudiadas presentan hojas persistentes durante todo el año, aun aquellas plantas que permanecen bajo la nieve varios meses (como *P. andinum* y *P. mohrioides*). En estos casos, la proliferación de yemas foliares durante la primavera es muy alta compensando rápidamente la pérdida parcial de hojas del invierno. Cada rizoma reúne entre 5-25 frondes; el número de frondes fértiles es variable, de unas pocas (*P. subintegerrimum*) a la totalidad de las hojas (*P. plicatum*), aún en una misma especie. Como en la mayoría de las especies de *Polystichum*, las frondes son monomórficas, sin diferenciación evidente entre estériles y fértiles, con la vernación circinada (las frondes jóvenes tienen el ápice enrollado, sin desplegar).

Las hojas de las especies de *Polystichum* van desde erectas a curvadas (Fig. 16 A-G). Las especies que habitan ambientes expuestos o a elevadas altitudes presentan frondes que tienden a estar rígidamente erguidas (*P. andinum*, *P. mohrioides* y *P. plicatum*), mientras que las frondes de especies que se encuentran en altitudes medias o bajas y en hábitats protegidos, como el sotobosque, son más curvadas y colgantes. Esta condición también se ha observado en un mismo taxón, especialmente en *P. plicatum*, la especie de más amplia distribución de los *Polystichum* australes (desde el Sur de Buenos Aires y Mendoza hasta Tierra del Fuego); aquí, los ejemplares de ambientes expuestos tienen hojas erectas con las pinnas más apretadas y ascendentes, en tanto que las frondes de individuos de ambientes protegidos, son más laxas y con las pinnas más separadas y horizontales.

1.2.1. Lámina

La mayoría de las especies (*P. montevidense*, *P. plicatum*, *P. subintegerrimum*, *P. tetragonum* y *P. pycnolepis*) presentan frondes 2-pinnadas. *Polystichum andinum* y *P. mohrioides* tienen las láminas más pequeñas (5-20 cm) y con menores divisiones (1-pinnadas a 1-pinnada-pinnatífidas) y, en contraposición, *P. multifidum* presenta las láminas más divididas (3-4-pinnadas) y es una de las especies con las frondes más largas (50-100 cm). La división de la lámina en los taxones de *Polystichum* estudiados varía de 1- a 4-pinnada (Fig. 16H-J).

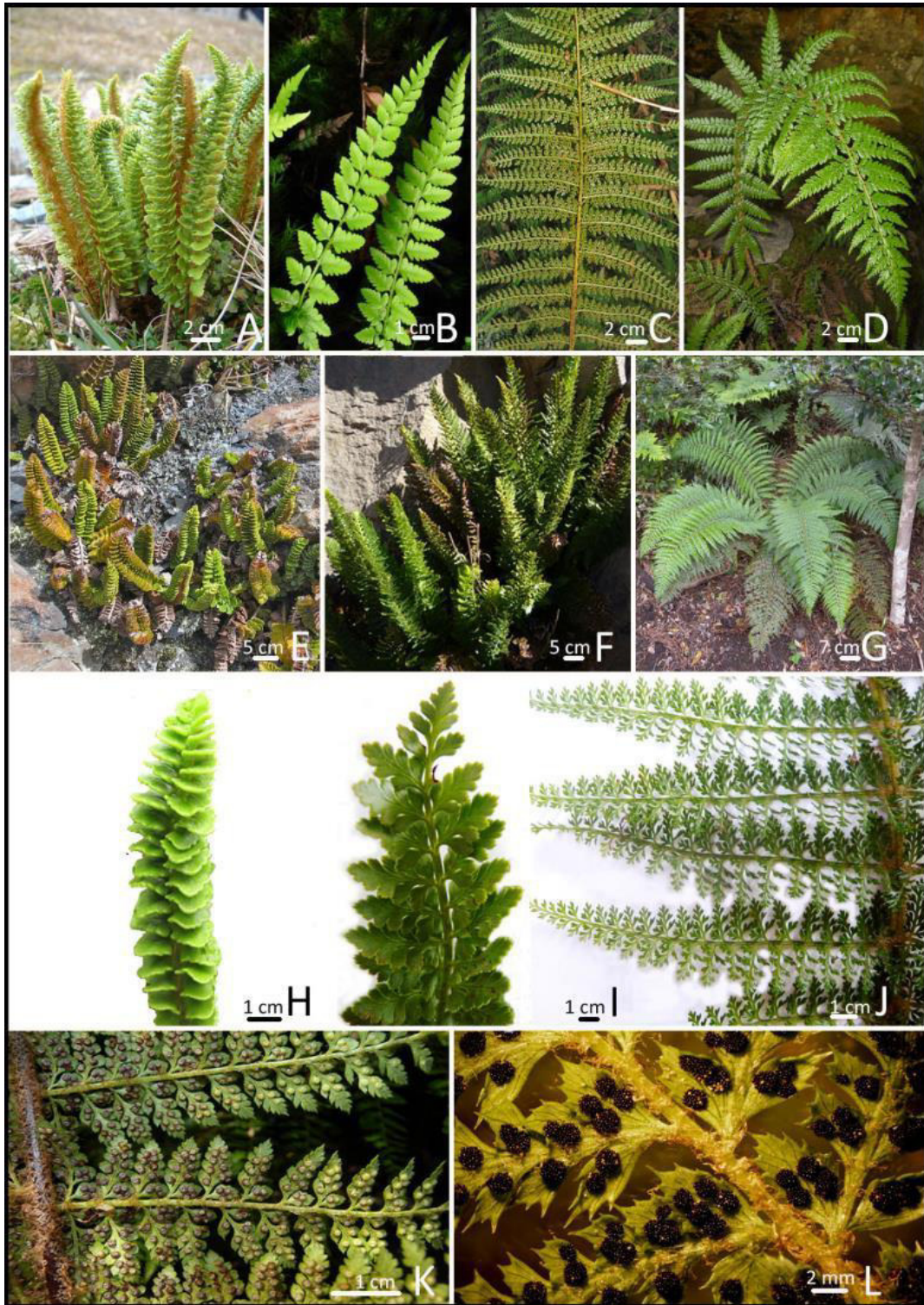


Fig. 16. Hábito de las especies y morfología de las frondes. **A.** *Polystichum mohrioides*, plantas en su hábitat. **B.** *P. subintegerrimum*, láminas jóvenes 1-pinnadas. **C.** **J.** *P. multifidum* var. *multifidum*, lámina 4-pinnada. **J.** Sector de la lámina mostrando la división de las pinnas y los bordes sin espinulas. **D.** **K.** *P. chilense*, **D.** Lámina 3-pinnada. **K.** Sector de la lámina mostrando las pínulas con el lóbulo acroscópico más desarrollado y soros con indusio. **E.** **H.** *P. andinum*, **E.** Hábito. **H.** Sector de la lámina mostrando las pinnas con bordes sin espinulas. **F.** **I.** *P. plicatum*, **F.** Plantas en su hábitat, **I.** Lámina 2-pinnada. **G.** *P. tetragonum*, hábito. **L.** *P. montevidense*, sector de la lámina (2-pinnada) mostrando el borde con espinulas fuertes y soros sin indusio.

La textura de la lámina varía desde algo carnosa en *P. andinum* y *P. mohrioides* hasta membranácea en las variedades de *P. multifidum*; en el resto de las especies es cartácea o papirácea. Las últimas divisiones (pinnas/pínnulas) tienen siempre la base inequilátera, presentando en el lado acroscópico una aurícula más o menos desarrollada según la especie (Fig. 16 K). Las bases de los segmentos son estrechas y asimétricas, los márgenes pueden ser lobados, aserrados o dentados, generalmente provistos de fuertes espínulas en las especies andinas (*P. montevidense* y *P. pycnolepis*), estando éstas ausentes o débilmente desarrolladas en los *Polystichum* Australes (Fig. 16H-K). El indumento de la lámina comprende pelos glandulares unicelulares capitados y escamas, la densidad y los tipos de escamas presentes, varían según las especies (Tabla 7, Figs. 14 y 15).

Tabla 7. Distribución de los pelos glandulares en las especies estudiadas.

Taxones	Pecíolo	Raquis	Epifilo	Hipofilo	Margen foliar	Indusio	Escama raquis	Escama rizoma	Escama pecíolo
<i>P. andinum</i>	+	+				+			
<i>P. chilense</i>							+		+
<i>P. chilense</i> var. <i>dusenii</i>							+		+
<i>P. montevidense</i>	+	+	+	+				+	+
<i>P. mohrioides</i>	+	+	+	+		+	+		+
<i>P. multifidum</i> var. <i>multifidum</i>	+	+	+	+	+				+
<i>P. multifidum</i> var. <i>pearcei</i>	+	+		+	+				+
<i>P. plicatum</i>	+	+		+					
<i>P. pycnolepis</i>	+		+	+				+	
<i>P.</i> <i>subintegerrimum</i>	+	+		+					
<i>P. tetragonum</i>				+					+

El patrón de nerviación en los taxones estudiados es abierto, a partir del nervio medio se originan nervios secundarios 1-2-furcados. Los soros siempre se ubican asociados a las venillas, pudiendo localizarse preferentemente a lo largo de ellas (ej. *P. multifidum* var. *multifidum*, *P. multifidum* var. *pearcei* y *P. subintegerrimum*,) o bien en el extremo, “soros terminales” (p. ej. *P. chilense*). En general, las especies restantes

presentan una combinación de ambas topologías del receptáculo soral. Asimismo, se han observado diferencias en la distribución de los soros en el envés de la lámina. En *P. andinum*, *P. mohroides* y *P. plicatum* las pinnas soríferas están restringidas al $\frac{1}{4}$ superior de la lámina, en ambas variedades de *P. chilense* y en *P. multifidum* ocupan hasta la $\frac{3}{4}$ parte de la misma, mientras que en *P. tetragonum*, *P. montevidense* y *P. pycnolepis*, generalmente todas las pinnas son soríferas. Los soros están protegidos por un indusio en las especies Australes, mientras que las especies Andinas presentan soros desnudos (=exindusiados) (Fig. 16 K,L).

La anatomía de la lámina difiere ligeramente entre las especies. Los segmentos presentan un surco a nivel del nervio medio por lo que, en corte transversal, se asemejan a una "V" muy abierta. En transcorte, se observa la epidermis (superior e inferior) unistrata, cubierta exteriormente por una cutícula lisa y delgada. Las células epidérmicas son rectangulares o más o menos isodiamétricas y se observan los estomas a nivel en todas las especies (Fig. 17A,B). En vista superficial, las células del epifilo son 3-4 veces más largas que anchas, paralelas a las venas, con paredes radiales sinuosas; hacia los márgenes, las células son isodiamétricas.

El hipofilo presenta células alargadas (con relación largo/ancho 5-6:1), las paredes radiales tienen sinuosidades irregulares; en contraste, las células del margen y las ubicadas a lo largo de las nervaduras son alargadas y de paredes rectas o levemente curvadas y carecen de estomas. En las especies que poseen espínulas en el margen (*P. montevidense* y *P. pycnolepis*), las células epidérmicas de las espínulas son alargadas y de paredes rectas. En todas las especies la lámina es hipostomática y la distribución de los estomas es homogénea en todo el hipofilo, excepto a nivel de los nervios donde están ausentes; los estomas encontrados son del tipo eupolocíticos, copolocíticos, iacíticos, anomocíticos y estaurocíticos, predominando los dos últimos tipos (Fig. 17 C-E).

Se observaron pelos unicelulares, con cabezuela unicelular secretora globosa, frecuentes en hipofilo, raros en epifilo, también en los márgenes de los indusios en *P. andinum* y *P. mohroides* (Tabla 7, Fig. 17 F-H).

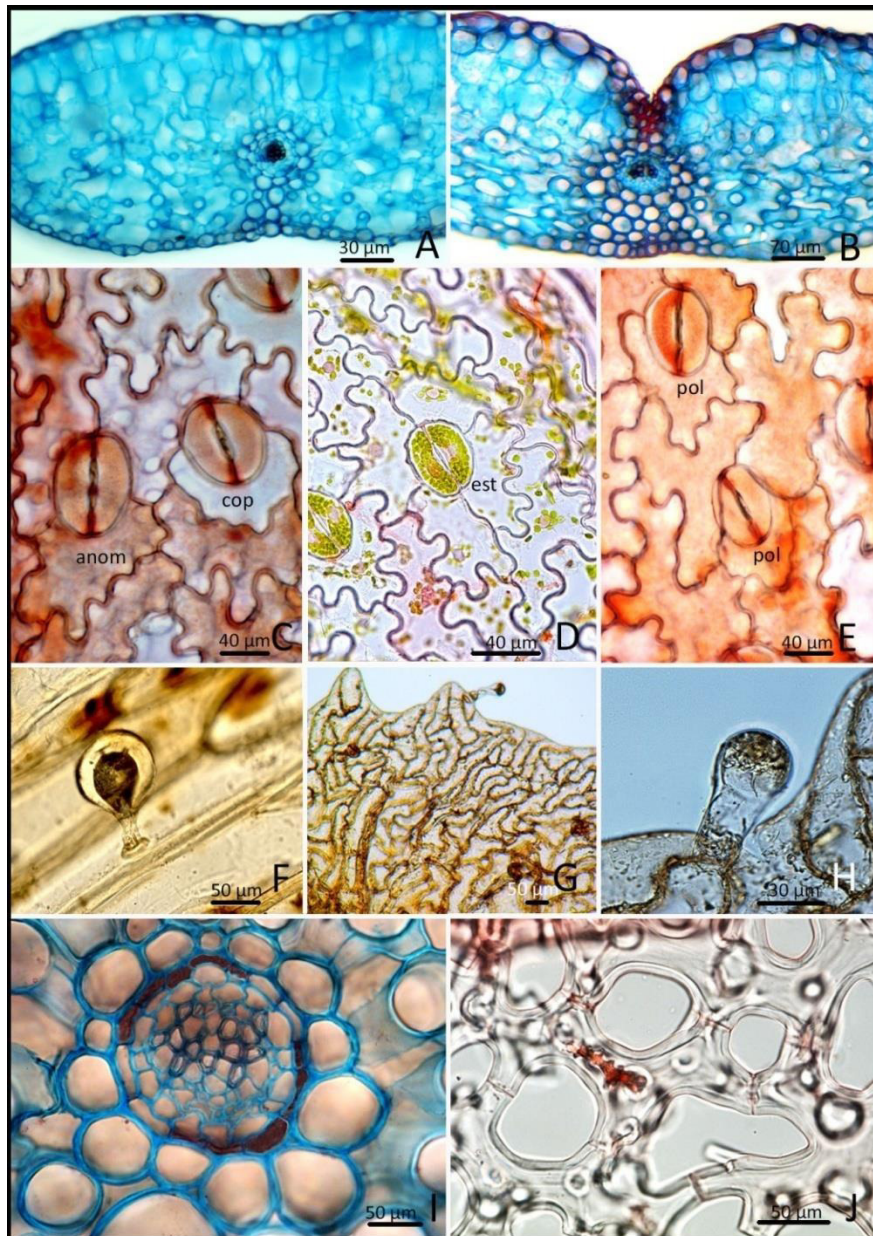


Fig. 17. Lámina. **A.** *P. multifidum* var. *pearcei*, corte transversal de un segmento mostrando el mesofilo. **B, I.** *P. subintegerrimum*, **B.** Corte transversal de un segmento a nivel del hacecillo medio. **I.** Detalle del hacecillo medio del corte mostrado en **B**, obsérvese la vaina parenquimática y la endodermis con células pigmentadas. **C.** *Polystichum plicatum*, estoma anomocítico (anom), rodeado por varias células similares a las epidérmicas y copolocítico (cop), semejante al polocítico pero con una célula adicional rodeando la célula en U. **D, F.** *P. montevidense*, **D.** estoma estaurocítico (est), con cuatro células subsidiarias. **F.** Pelo glandular en la superficie de la escama. **E, J.** *P. chilense* var. *chilense*, **E.** estomas polocíticos (pol), rodeado por una célula subsidiaria en forma de U. **J.** Parénquima braciforme, nótese las prolongaciones unguladas de las células clorénquimáticas. **G, H.** *P. mohrioides*, **G.** Indusio con pelos glandulares en la superficie y el margen. **H.** Detalle de un pelo glandular del indusio mostrado en **G**.

Frecuentemente se encontraron microescamas en la lámina de todas las especies estudiadas, las que son más frecuentes a nivel de los nervios del hipofilo.

El hacesillo vascular principal y los secundarios, que se sitúan equidistantes entre la epidermis adaxial y abaxial, están rodeados por una endodermis y la vaina del haz. La última está constituida por 1-2 capas de tejido parenquimatoso en los nervios secundarios o, varias capas más, a nivel de la costa, donde se extiende de la epidermis abaxial a la adaxial; a nivel del surco medio, la vaina del haz se lignifica (Fig. 17B). En el mesofilo no hay una diferenciación neta entre el parénquima en empalizada y el parénquima esponjoso; sin embargo, el parénquima clorofílico tiende a ser más compacto en las capas cercanas a la epidermis adaxial, donde se encuentran 1-4 capas de células cuadrangulares a rectangulares relativamente ordenadas y con escasos espacios intercelulares entre ellas (Fig. 17A,B); hacia abaxial, el mesofilo se compone en su mayor parte de parénquima del tipo braciiforme (Fig. 17J). En las láminas coriáceas de *P. plicatum* la epidermis presenta células con paredes muy gruesas y lignificadas.

1.2.2. Pecíolo y raquis

El pecíolo es cilíndrico, surcado dorsalmente, verde o amarronado, generalmente con las bases oscuras y escamosas. El diámetro y la longitud de los pecíolos varían notablemente entre las especies, siendo los menores de 1-2 mm de diám. y 2-5 cm de largo (*P. andinum*), en tanto, los mayores pueden alcanzar ca. 20 mm de diám. y 70 cm de largo (en *P. chilense* var *dusenii* y *P. multifidum* var. *multifidum*).

En corte transversal, se observa en todas las especies estudiadas, una cutícula delgada y lisa. La epidermis es simple, formada por células isodiamétricas en transcurso y alargadas en vista superficial, con paredes igualmente engrosadas y muy a menudo lignificadas, generalmente presentan cloroplastos. En la mayoría de las especies, los estomas están restringidos a dos líneas laterales respiratorias, donde se disponen en varias (2-5) series paralelas (Fig. 18 A); en algunas especies (p. ej. *P. plicatum*), las células

oclusivas del estoma se deforman y el poro colapsa, especialmente en las pecíolos de hojas más maduras (Fig. 18B).

En cuanto a los apéndices epidérmicos, además de las escamas, se observaron pelos glandulares 1-celulares (Fig. 18C), también 2-celulares en *P. andinum*, la distribución de los mismos se resume en la Tabla 7. Las escamas varían en coloración, margen, forma y tamaño en las distintas especies (Figs. 14, 15, 18D y descripciones por especie Capítulo IV).

En transcorte, la corteza se inicia en un tejido hipodérmico mecánico, que consiste en células parenquimáticas de paredes engrosadas y lignificadas, denominado estereoma, organizadas en varias capas, alrededor de 5-6 en los pecíolos más delgados (*P. andinum* y *P. mohrioides*) y alrededor de 15, en los pecíolos de mayor grosor (como en *P. multifidum* var. *multifidum*, *P. tetragonum* y *P. montevidense*); en este último caso, las paredes celulares se pigmentan de castaño oscuro por la presencia de taninos (Fig. 18E).

A nivel de las líneas laterales, la lignificación de las células parenquimáticas del córtex disminuye y aumentan los espacios intercelulares principalmente a nivel de los estomas, facilitando así el intercambio gaseoso. Los cloroplastos están presentes por lo menos en las capas más superficiales de la corteza, pero pueden hallarse más internamente llegando hasta la médula (p. ej. *P. multifidum* var. *pearcei*). El parénquima medular consta de células isodiamétricas, con paredes delgadas y abundantes granos de almidón.

Como en el rizoma, el tipo de estela del pecíolo es una dictiostela (Fig. 18 G,H). Cada meristela se compone del hacesillo vascular (xilema y floema) y el periciclo (Fig. 19 A-D). En algunas especies, el periciclo es muy conspicuo y está formado por 2-3 estratos de parénquima que rodean el hacesillo vascular (ambas variedades de *P. multifidum*), mientras que en otros taxones es difícil diferenciarlo (p. ej. *P. mohrioides*).

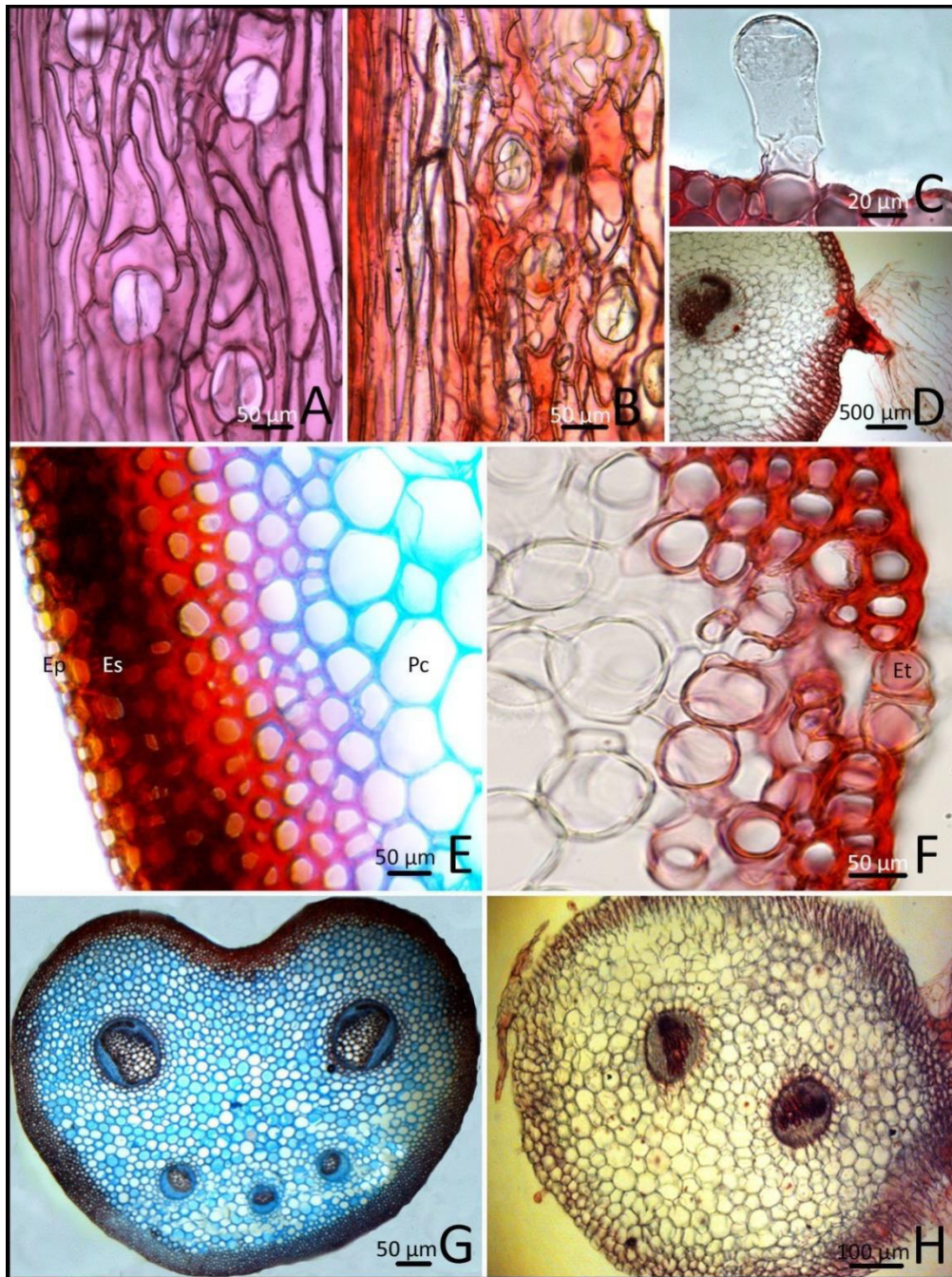


Fig. 18. Pecíolo y raquis. **A, F.** *Polystichum subintegerrimum*: **A.** Línea lateral del raquis, vista superficial. **F.** Línea respiratoria, en transcorte de pecíolo, mostrando estoma levemente elevado. **B,D,G.** *P. plicatum*: **B.** Línea lateral en vista superficial del pecíolo con estomas no funcionales. **D.** Raquis en transcorte mostrando la base de una escama pedicelada. **G.** Transcorte de pecíolo mostrando la disposición de las meristelas. **C, H.** *P. andinum*: **C.** Pelo glandular del pecíolo. **H.** Corte transversal del pecíolo mostrando las dos meristelas. **E.** *P. chilense*, corte transversal de pecíolo, mostrando epidermis e hipodermis lignificada (estereoma) y las capas más externas con taninos. Ep, epidermis; Es, estereoma; Et, estoma; Pc, parénquima cortical.

La endodermis corresponde a uno o dos estratos especializados de células parenquimáticas que rodean cada meristela. Fácilmente distinguibles en corte transversal, las células endodérmicas, son más pequeñas que las circundantes y muestran una forma rectangular, tangencialmente alargada, con las paredes generalmente delgadas (Fig. 19B-F). En ellas, la banda de Caspary no sólo está restringida a las paredes radiales, sino que la suberización también se extiende a las tangenciales (interna y externa). La tinción con Sudán IV fue positiva para suberina en la banda de Caspary (Fig. 19 D).

Cada meristela contiene un hacecillo anficribal concéntrico (hacecillos anfibloicos), de manera que el xilema está completamente rodeado de floema. Las meristelas constan de tejidos vasculares primarios (xilema primario y floema primario). El floema y el xilema son exarcos, pues la diferenciación de estos tejidos es centrípeta y procede hacia el interior de la meristela. De manera que en el caso del floema, el metafloema (más recientemente formado) se halla en contacto con el xilema. Asimismo, en aquellas especies que presentan el xilema en forma de “kitasato” (todas las especies, excepto *P. andinum*) el protoxilema está ubicado en el extremo delgado y, hacia la base de la región ensanchada, se encuentra el metaxilema (Fig. 19 A,B).

El número de meristelas (generalmente 2-8) y la forma del xilema en corte transversal, presentan variantes según la especie (Fig. 19 A,B, Tabla 8). Así, en la base del pecíolo, *P. andinum* y *P. mohrioides* exhiben el menor número de meristelas, dos y tres, respectivamente. En el primero, el xilema de cada hacecillo tiene forma deltoide (Fig. 18 H, 19 B,)), en tanto en el segundo, las dos meristelas dorsales tienen el xilema en forma de kitasato y es elíptico, en la meristela más pequeña opuesta a las anteriores.

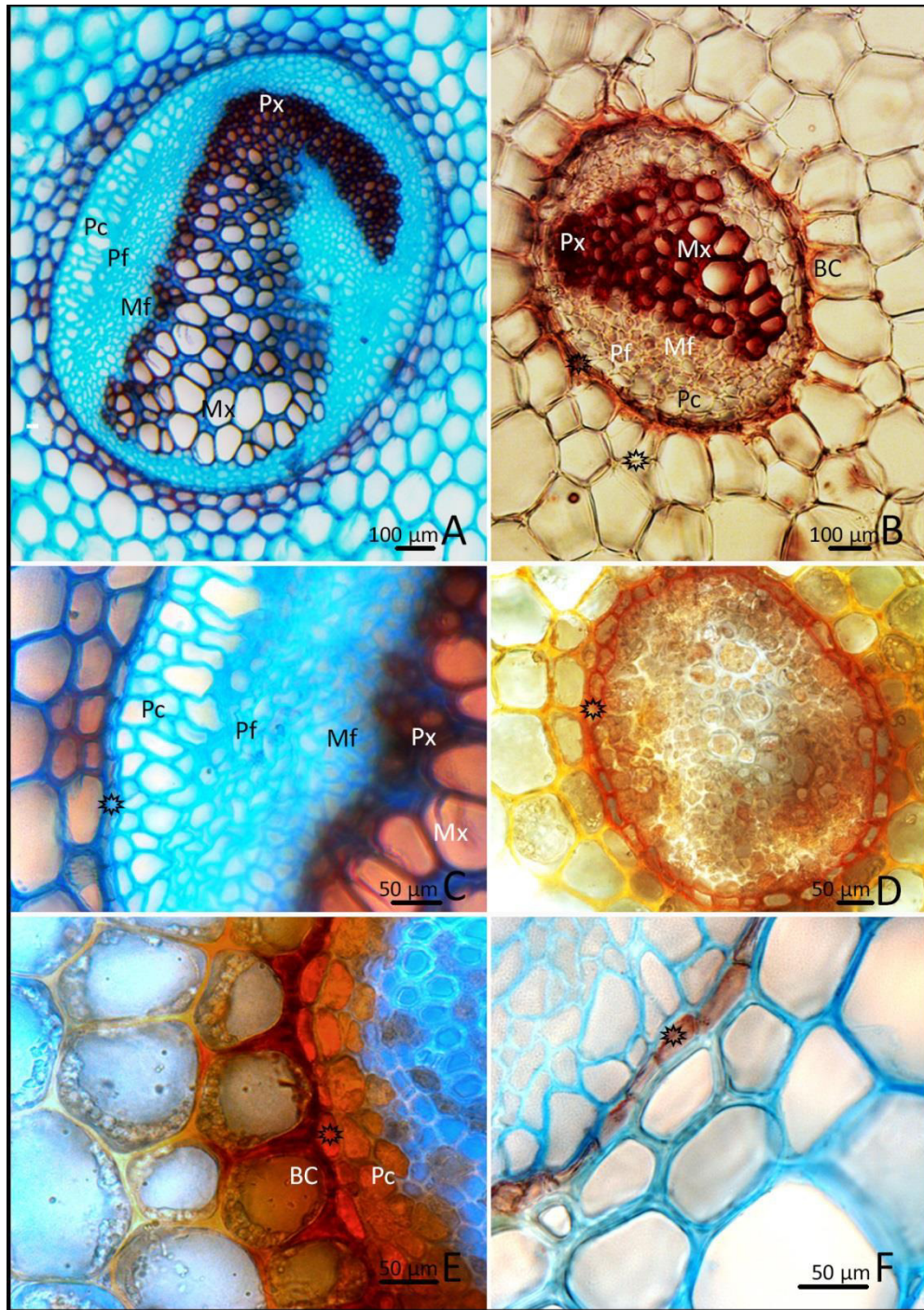


Fig. 19. Meristelas. **A,C.** *Polystichum multifidum* var. *multifidum*, **A.** Meristela mayor, con el cordón xilemático en forma de kitasato. **C.**Detalle de la meristela mostrada en **A.** **B,D.** *P. andinum*, **B.** Meristela. **D.** Meristela, se destacan las células endodérmicas con las paredes celulares anaranjadas, tinción Sudán IV. **E.** *P. plicatum*, detalle de la porción más externa de una meristela. **F.** *P. chilense*, obsérvense las células endodérmicas con contenido oscuro. ⚙, endodermis; BC, banda circumendodernal; Mf, metafloema; Mx, metaxilema; Pf, protofloema; Px, protoxilema; Pc, periciclo.

En *P. plicatum* y *P. subintegerrimum*, se observaron cinco meristelas, y en el resto de las especies 6-7; en todas ellas, las dos meristelas mayores presentan el xilema en forma de kitasato y se hallan hacia la cara dorsal, una a cada lado de la escotadura media, las meristelas restantes (3-5) son ventrales, más pequeñas y con el xilema en forma de elipse estrecha (Fig. 18 G). El número de meristelas varía a lo largo del pecíolo y ejes foliares. Esto ocurre porque se van fusionando las menores entre sí, quedando en algunos casos, sólo una o las dos meristelas mayores, en el extremo de los raquis de mayor orden.

Asimismo, tanto en las especies Andinas como en las Australes (con excepción de *P. chilense* y *P. multifidum*) se ha observado la presencia de la “banda circumendodermal” (BC), representada por 1-3 capas de células parenquimáticas con paredes engrosadas que rodean exteriormente la endodermis (Fig. 20). La BC ha sido analizada comparativamente entre los taxones a nivel de la base del pecíolo, pues los engrosamientos pueden variar a lo largo de este órgano y hasta desaparecer en los raquis.

En la mayoría de las especies, las células de la BC presentan engrosamientos en las paredes radiales y tangenciales internas que adoptan la forma de “U” en transcurso y se hallan pigmentados de color castaño a negruzco (Fig. 20 A-E). En las variedades de *Polystichum chilense* y *P. multifidum* no se observó la BC pues, aunque se detectaron engrosamientos de la pared celular en la misma capa parenquimática, no contienen taninos, la reacción con fluoroglucina indica que están lignificados (Fig. 20F). La BC, que es positiva en las pruebas histoquímicas para los taninos, puede ser continua o discontinua. Los engrosamientos pueden llegar a ocupar el lumen completo de las células, como es el caso de *P. tetragonum*, único taxón con BC discontinua (Fig. 20 G-J). Asimismo, en las especies que presentan BC, también se identificaron células con engrosamientos similares en la médula parenquimática de los pecíolos (Fig. 20 K).

La coloración y el aspecto de los raquis no difieren significativamente de la porción apical del pecíolo en donde se originan, siendo generalmente verdes, surcados dorsalmente y disminuyendo en diámetro a medida que se ramifican en los raquis de

mayor orden; las líneas respiratorias se prolongan desde el pecíolo y se extienden en los laterales de los raquis, pueden verse a simple vista, más oscuras o más claras que el tejido circundante. El número de meristelas disminuye progresivamente a lo largo de estos ejes foliares, pudiendo quedar sólo una de las grandes en los raquis de mayor orden.

En general, las escamas que los recubren son más pequeñas y menos esclerosadas que las que están presentes en el pecíolo (Figs. 14 y 15 y descripción por especie Capítulo IV). También es bastante frecuente la presencia de pelos glandulares (Tabla 7). En las especies estudiadas están ausentes los bulbillos, éstos son yemas usualmente ubicadas en el extremo del raquis primario, capaces de desarrollar una planta independiente.

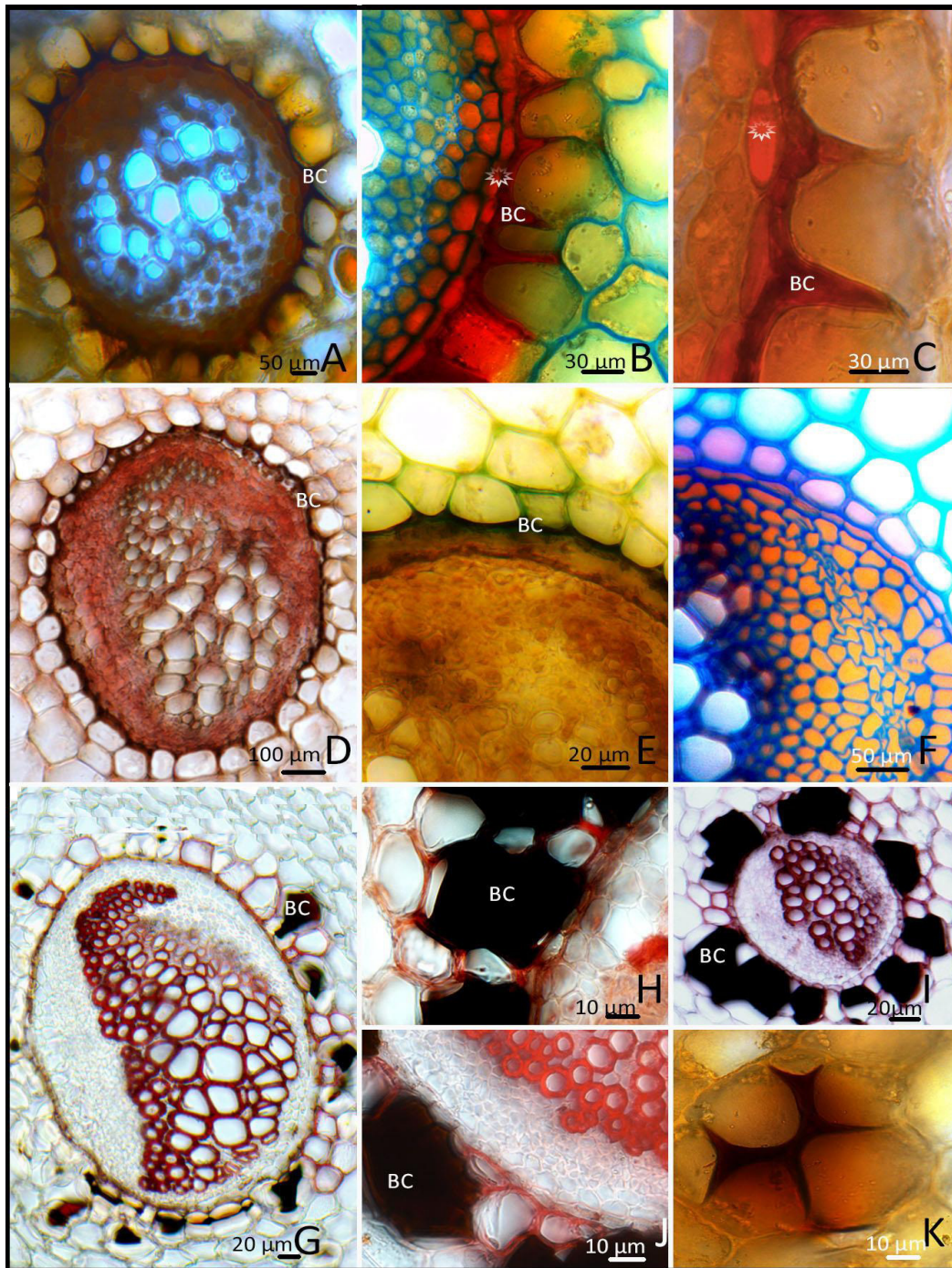


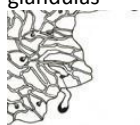













Fig. 20. Banda circumsodermal (BC). **A, B.** *Polystichum montevidense*, **A.** BC continua. **B.** Detalle de la BC con los engrosamientos en U, algunos llegan a cubrir parte de las paredes radiales. **C, K.** *P. plicatum*, **C.** BC con engrosamientos en U. **K.** Células del parénquima medular similares a las de la BC. **D, E.** *P. mohrioides*, **D.** BC continua. **E.** Detalle de los engrosamientos celulares, la mayoría restringidos a la cara tangencial interna (verde negruzco), tinción cloruro férrico. **F.** *P. chilensevar. dusenii*, meristela sin BC. **G-J.** *P. tetragonum*, **G.** Meristela mayor con la BC discontinua, **H, J.** BC constituida por 1-3- capas celulares y engrosamientos que ocupan todo el lumen celular. **I.** Meristela menor mostrando la BC. ⚙, endodermis

Tabla 8. Resumen de algunas diferencias en las tendencias de los caracteres morfológicos y anatómicos de los rizomas y frondes de *Polystichum* Andinos y Australes basados en las especies estudiadas. Los paréntesis indican que la cantidad es poco frecuente.

	<i>P. andinum</i>	<i>P. chilense</i> var. <i>chilense</i>	<i>P. chilense</i> var. <i>dusenii</i>	<i>P. mohrioides</i>	<i>P. multifidum</i> var. <i>multifidum</i>	<i>P. multifidum</i> var. <i>pearcei</i>	<i>P. plicatum</i>	<i>P. subintegerrimum</i>	<i>P. tetragonum</i>	<i>P. montevidense</i>	<i>P. pycnolepis</i>
Presencia de Indusio	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
Escamas ciliadas										✓	✓
											
Espinulas fuertes										✓	✓
											
Indusio con glándulas	✓			✓							
											
N° meristelas en la base del pecíolo	2 (3)	6-7	6-7	3	6-7	5-6	5	5	6	6	5-6
											
Presencia de CB	✓			✓			✓	✓	✓	✓	✓

2. Caracteres morfométricos

2.1. Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales (ACP) reveló que los dos primeros componentes principales explican el 80% de la variabilidad total de los datos, correspondiendo el 65% al componente principal 1 (CP1) y el 15,1 % al componente principal 2 (CP2) (Fig. 21).

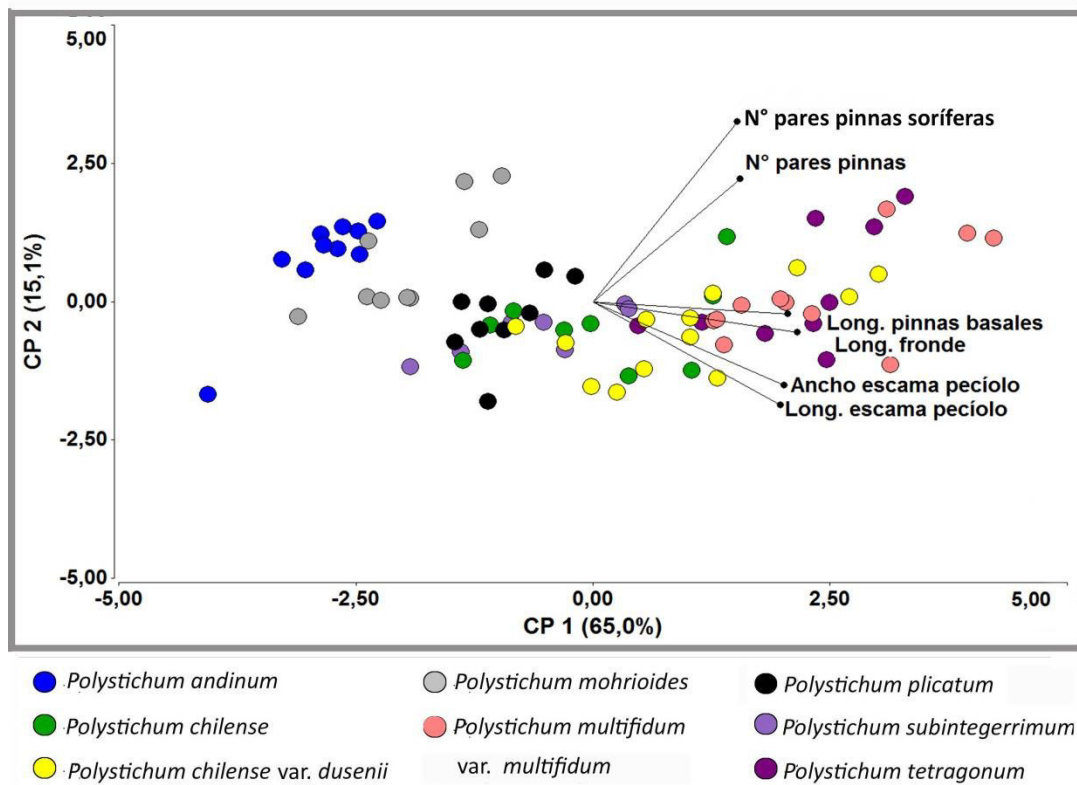


Fig. 21. Biplot resultante del análisis de componentes principales (ACP) basado en 6 variables morfométricas de 77 especímenes pertenecientes a 8 taxones de *Polystichum* Australes.

La longitud de la fronde, la longitud de las pinnas basales y el largo y ancho de las escamas peciolares fueron las principales variables que se asociaron positivamente con el eje 1, mientras que el número de pinnas soríferas fue la principal variable relacionada positivamente con el eje 2 (Tabla 9). A lo largo del CP1 se observa un gradiente

prácticamente continuo en el ordenamiento de las especies analizadas (Fig. 21). En el extremo negativo de este eje se encuentran primero *P. andinum* seguido, en segundo lugar, por *P. mohrioides*, estos dos taxones poseen las frondes, las pinnas basales y las escamas peciolares más pequeñas. Con los fenotipos opuestos para estos caracteres y en el extremo positivo del CP 1, se encuentran *P. multifidum* var. *multifidum* y *P. tetragonum*. El resto de los taxones, con dimensiones intermedias para estos rasgos, no se definen claramente en el sector medio de este eje.

Tabla 9. Autovectores (e_1 y e_2) resultantes del análisis de componentes principales, mostrando los coeficientes con que cada variable original fue ponderada para conformar el componente principal 1 (CP1) y el componente principal 2 (CP2). Análisis generado con 6 variables morfométricas computadas en 77 especímenes de *Polystichum* Australes. Las variables se disponen en orden decreciente de acuerdo a los valores del coeficiente e_1 .

Variables	Autovectores	
	e_1	e_2
Longitud de la fronde	0.47	-0.10
Longitud de las pinnas basales	0.45	0.04
Ancho de la escama del pecíolo	0.44	-0.32
Longitud de la escama del pecíolo	0.43	-0.40
N° de pares de pinnas	0.33	0.35
N° de pares de pinnas soríferas	0.30	0.78

A lo largo del CP2 no se observa una separación de los distintos taxones analizados (Fig. 21). Sin embargo, la mayoría de los individuos de *P. andinum* tienden a ubicarse en el extremo positivo del mismo, caracterizado por presentar mayor cantidad de pinnas soríferas por hoja y escamas peciolares pequeñas.

2.2. Análisis discriminante

En el análisis discriminante (Fig. 22), el eje canónico 1 explicó el 68,19 % de la variación, mientras que el eje 2 sólo absorbió el 22,74 %, totalizando ambos el 90,93% de la variabilidad entre grupos.

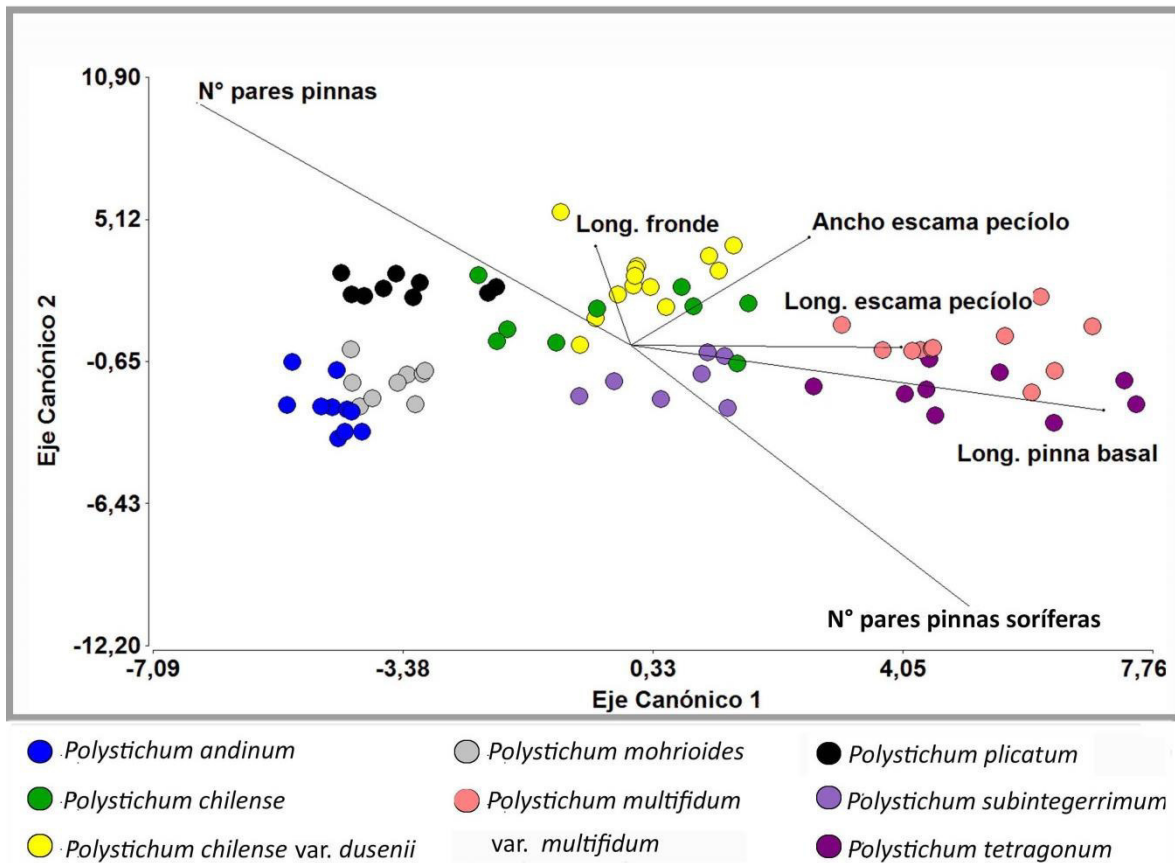


Fig. 22. Biplot resultante del análisis de discriminante basado en una matriz de 6 variables morfométricas computadas en 77 especímenes pertenecientes a 8 taxones de *Polystichum* Australes.

La discriminación de las especies en el eje 1 estuvo principalmente relacionada de forma positiva a la longitud de las pinnas basales y negativamente al número de pares de pinnas; mientras que, el eje 2 se asoció mayoritariamente al número de pares de pinnas y

al número de pares de pinnas soríferas, de forma positiva y negativa, respectivamente (Tabla 10).

A lo largo del eje 1 se observa claramente que en el extremo negativo se sitúan *Polystichum andinum*, *P. mohrioides* y *P. plicatum*, por ser los taxones cuyas frondes presentan menor número de pares de pinnas y las pinnas basales más pequeñas. Es interesante destacar que, prácticamente no hay solapamiento entre estos tres especies, pues en el extremo negativo de este eje, con los valores más bajos para el número de pares de pinnas, se separa *P. andinum*; al mismo tiempo, por el segundo eje canónico se diferencia *P. plicatum*, por presentar mayor número de pares de pinnas y menor número de éstas soríferas, que las otras dos especies.

Tabla 10. Resultados del análisis discriminante con 8 especies de *Polystichum* Australes. Funciones discriminantes, datos estandarizados con las varianzas comunes.

Variables	1	2
Long. pinnas basales	0,77	-0,31
Ancho escama del pecíolo	0,30	0,48
Long. escama del pecíolo	0,42	-0,01
Long. fronde	-0,04	0,45
N° pares de pinnas	-0,72	1,12
N° pares de pinnas soríferas	0,54	-1,27

En el extremo positivo del eje 1 se encuentran *P. multifidum* var. *multifidum* y *P. tetragonum* quienes tienen la longitud de las pinnas basales más grandes y la mayor cantidad de pares de pinnas (Fig. 22). Si bien los individuos de estos dos últimos taxones

no se separan claramente entre sí, se observa que *P. multifidum* var. *multifidum* tiene en general valores más positivos en el eje 2 que *P. tetragonum*. Esto último estaría evidenciando que los especímenes de *P. multifidum* tienden a tener mayor número de pares de pinnas y menos pinnas soríferas que *P. tetragonum*.

Con valores intermedios en el eje 1, se encuentran *P. chilense*, *P. chilense* var. *dusenii* y *P. subintegerrimum* (Fig. 22), indicando que tienen las frondes con número de pares de pinnas intermedios entre *P. andinum*, *P. mohrioides* y *P. plicatum*, por un lado, y *P. multifidum* var. *multifidum* y *P. tetragonum*, por el otro. Resulta interesante destacar que de estos tres taxones con frondes intermedias, *P. subintegerrimum*, tiende a separarse de los restantes con valores más bajos en el eje 2, indicando que estos individuos tienen una menor cantidad de pinnas y, a la vez, menor número de pinnas fértiles que los de *P. chilense* y *P. chilense* var. *dusenii*. Además, es importante resaltar que estos dos últimos taxones no se discriminan entre sí.

Por otro lado, como resultado del análisis discriminante, la tabla de clasificación cruzada mostró que los individuos pre-clasificados de *P. andinum*, *P. plicatum*, *P. subintegerrimum* y *P. tetragonum* fueron asignados correctamente a sus respectivas especies (tasa de error del 0 %, Tabla 11), por lo que estos taxones se diferencian muy bien en función de las variables utilizadas. Sin embargo, se obtuvo una tasa de error del 22,22% al diferenciar los individuos de *P. mohrioides*, elevándose la tasa de error a 30,77% al discriminar los especímenes de *P. chilense* var. *dusenii* de la variedad tipo; esto último evidencia que estos taxones no se discriminan en función de las variables seleccionadas, pues algunos especímenes fueron asignados a grupos taxonómicos distintos de los previamente establecidos. En el caso de *P. multifidum* var. *multifidum*, el porcentaje de error (9%) es sensiblemente menor que en los anteriores y las variables podrían ser de todos modos útiles para discriminar los individuos de esta especie.

Tabla 11. Tabla de clasificación cruzada (tasa de error aparente). Se observan en las filas los individuos previamente asignados a cada especie y en las columnas los mismos individuos y las especies a las que se asignan al usar la función discriminante.

Especie	<i>Polystichum andinum</i>	<i>P. chilense</i> var. <i>chilense</i>	<i>P. chilense</i> var. <i>dusenii</i>	<i>P. mohrioides</i>	<i>P. multifidum</i> var. <i>multifidum</i>	<i>P. plicatum</i>	<i>P. subintegerrimum</i>	<i>P. tetragonum</i>	Total	Error (%)
<i>P. andinum</i>	10								10	0
<i>P. chilense</i> var. <i>chilense</i>		7	1			1			9	22,22
<i>P. chilense</i> var. <i>dusenii</i>		4	9						13	30,77
<i>P. mohrioides</i>	2			7					9	22,22
<i>P. multifidum</i> var. <i>multifidum</i>					10			1	11	9,09
<i>P. plicatum</i>						9			9	0
<i>P. subintegerrimum</i>							7		7	0
<i>P. tetragonum</i>								9	9	0
Total	12	11	10	7	10	10	7	10	77	11,69

DISCUSIÓN

1. Variabilidad y valor taxonómico de los caracteres morfológicos y anatómicos

1.1. Rizoma: tejidos no vasculares

Estudios morfo-anatómicos de *Polystichum* (Chandra & Nayar 1982, Roux & Van Wyk 2000) y la información aportada por diversas floras y trabajos florísticos (Barrington 1995, Roux 2000, 2001, 2004, Brownsey & Smith-Dodsworth 2000, Barrington 2011, Zhang & Barrington 2013), muestran que la mayoría de las especies presentan dos tipos básicos de rizomas: erectos y decumbentes. El tipo erecto es corto y generalmente no ramificado con un largo número de frondes originadas en la región apical, mientras que el tipo decumbente es usualmente largo y ramificado, naciendo las hojas a lo largo del mismo. Ambas formas están presentes en las especies de *Polystichum* estudiadas, siendo la primera de ellas la más frecuente. Sin embargo, en *P. tetragonum* y *P. plicatum*, los rizomas de las plantas grandes no son completamente verticales, si no que suelen inclinarse lateralmente (rizomas ascendentes). Sólo en una especie, *P. andinum*, los rizomas son decumbentes, naciendo apretadamente varias plantas a lo largo de él. Según Roux y Van Wyk (2000), las especies con este tipo de rizoma a menudo se encuentran en hábitats más expuestos creciendo en densos clones, como es precisamente el caso de *P. andinum*, que habita gregariamente en los intersticios rocosos de ambientes de alta montaña. En contraste con el tipo de rizoma decumbente, el rizoma erecto de las especies de *Polystichum* analizadas, se presenta en individuos que viven aislados y raramente forman agrupamientos densos.

En cuanto a los caracteres anatómicos del rizoma, se observó que son histológicamente muy similares en todas las especies estudiadas, por lo cual no serían taxonómicamente informativos. Además, las escamas del rizoma, uno de los caracteres con significado taxonómico para discriminar especies y grupos de especies (Andinas y Australes), será tratado más adelante en el estudio de las frondes.

1.2. Tejidos vasculares del rizoma y ejes foliares

Los patrones de vascularización en helechos han fascinado a los botánicos desde el siglo diecinueve y, aún en la actualidad, la variación en los patrones de la estela de los pecíolos es un carácter taxonómico importante en este grupo de plantas (Lin & DeVol 1977, 1978, Pittermann et al. 2015).

La estructura estelar de los rizomas y ejes foliares en las especies de *Polystichum* estudiadas, es una dictiostela, patrón ya mencionado para todos los géneros de Dryopteridáceas (Ogura 1972, Pittermann et al. 2015). En este tipo de estela, el tejido vascular primario está representado por un círculo de haces vasculares con áreas parenquimatosas –las lagunas foliares– situadas entre ellos (Fahn 1990). Cada haz vascular y el periciclo (cuando presente) constituyen una meristela. Asimismo, se observó el tipo de dictiostela denominado “Aspidium”, propuesto por Ogura (1972) para *Polystichum* y otros géneros afines. En este modelo, típicamente, varias meristelas se disponen en forma de “U” abierta hacia la cara dorsal del pecíolo; las dos más grandes se localizan en la posición dorso-lateral, a ambos lados del surco medio y, entre ellas y hacia la cara abaxial, se ubican las menores. En los taxones examinados, se reconocieron de 2 a 7 (raramente ocho) meristelas en transcortes de la base del pecíolo. Datos previos para otros miembros del género fueron similares al rango obtenido para las especies estudiadas, por ej. se reportaron hasta nueve haces vasculares en *P. biaristatum* y escasamente dos en *P. obliquum* (Khullar & Gupta 1979). El número de meristelas en la base del pecíolo, permite distinguir a *P. andinum* y *P. mohroides* del resto de las especies estudiadas, pues se observan dos haces vasculares en el primero y tres en el segundo; mientras que en el resto de las especies la cantidad varía entre 5-7, siendo *P. multifidum* var. *multifidum* y *P. chilense* los taxones con el mayor número de haces vasculares (6-8). Por lo tanto, no habría diferencias en el patrón de estelas entre las especies Andinas y Australes.

Según Lin & DeVol (1977) el tipo más frecuente de configuración del cordón del xilema en las dictiostelas es el “hipocampo”, término acuñado por Ogura (1972) en alusión

a la forma típica del xilema con los dos extremos curvados (semejante a un caballito de mar) en transcorte; otros autores (Hernández et al. 2006, Pitterman et al. 2015) han aplicado el mismo término para *Dryopteris* y *Polystichum*, pero en estos géneros el xilema adopta una forma diferente, con un solo extremo delgado y curvo y el opuesto ancho y recto, por ello es denominado en este trabajo forma de “kitasato” (Fig. 19A). En todas las especies estudiadas, el xilema de las dos meristelas mayores presentan la configuración en “kitasato”, con excepción de *P. andinum*, que tiene el xilema en forma deltoide.

Cabe destacar que se pudo observar una correlación positiva entre el número de meristelas de la dictiostela y el tamaño de las plantas, correspondiendo a las especies con individuos más grandes, las estelas con hacecillos más numerosos; probablemente por necesitar éstos últimos un mayor aprovisionamiento y distribución de nutrientes. Asimismo, en relación a la evolución de las dictiostelas en helechos, resulta interesante destacar el trabajo de Pittermann et al. (2015). Según estos autores, los patrones de vascularización con varios hacecillos de conducción, como las dictiostelas, están presentes en los linajes de helechos más derivados (Eupoliploides I y II, Schneider et al. 2004, Schuettpeitz & Pryer 2009, Liu et al. 2014), mientras que los grupos más basales (p. ej. Saccolomataceae, Cystodiaceae, Lindsaeaceae, Lonchitidaceae, Dennstaedtiaceae y Pteridaceae) tienen estelas con un solo hacecillo de conducción, sugiriendo que la estructura del xilema (especialmente el aumento del número de cordones xilemáticos) estuvo bajo una fuerte presión de selección para resistir la sequía, durante la diversificación de los helechos eupoliploides, suceso que se estima ocurrió en el Cenozoico.

Otro atributo vascular polimórfico de importancia taxonómica y filogenética es la Banda circumendodermal (BC). La BC es una capa celular que rodea los hacecillos foliares de rizomas y ejes foliares, por fuera de la endodermis. Se halla presente en todas las especies estudiadas, salvo en los especímenes analizados de *P. chilense* y *P. multifidum*. La BC no permitiría diferenciar a los *Polystichum* del grupo Austral de las especies Andinas; sin embargo, resultó especialmente útil para distinguir a *P. tetragonum* pues es el único

taxón con una BC discontinua y con engrosamientos que ocluyen el lumen celular. En *P. andinum*, *P. mohrioides*, *P. montevidense*, *P. plicatum*, *P. pycnolepis* y *P. subintegerrimum*, los engrosamientos son en forma de “U” y la BC es continua, por lo cual, no es posible utilizar este carácter para discriminar separadamente estas especies. Las funciones de la BC aún no se conocen con claridad, según Hernández-Hernández et al. (2012) podría atribuírsele una función protectora pues la presencia de taninos serviría de barrera contra patógenos; además, proporcionaría una mayor rigidez y resistencia mecánica a las frondes. La exclusiva presencia de esta banda en la mayoría de las familias más derivadas de helechos soporta la hipótesis de un origen evolutivo único de la CB, correlacionado con la evolución de las dictiostelas (Hernández-Hernández et al. 2012).

1.3. Fronde: tejidos no vasculares

La división de la lámina es uno de los caracteres morfológicos de la fronde taxonómicamente más informativos. Los *Polystichum* Australes, presentan láminas 1-4 pinnadas. Si bien, la división de la lámina puede incrementarse con la edad de la planta (Barrington 2011), siendo las plantas más juveniles menos divididas que las maduras, las comparaciones realizadas en individuos adultos muestran que la división de la lámina es un carácter bastante conservado y no está afectado por el hábitat. Otro de los caracteres morfológicos informativos que ha permitido separar claramente dos grupos en los *Polystichum* Australes, es la forma de la porción apical de la lámina y de las pinnas, las que pueden terminar en una punta corta (acuminada) o larga (extremo pinnatífido), independientemente del hábitat o edad de la planta, carácter que también se ha empleado en la taxonomía de las especies de *Polystichum* de los Andes (McHenry & Barrington 2014). La presencia de espínulas en el margen foliar y el grado de desarrollo de las mismas, o bien su ausencia, es otro de los caracteres informativos no influenciados por el hábitat, habiéndose hallado que las especies Australes, a diferencia de las Andinas, no presentan espínulas en el margen o, si están presentes, son débiles y se restringen al extremo de la aurícula y de la pinna. En tanto, los congéneres Andinos analizados las presentan muy desarrolladas en todo el margen. La epidermis de la lámina en las especies

de *Polystichum* sigue el patrón básico reportado para otras especies del género (Mehra & Sony 1983, Chandra 1977), con células epidérmicas alargadas y paralelas a las venas, usualmente de mayor tamaño en la epidermis inferior. El tamaño de las células epidérmicas del envés (vista superficial) varía considerablemente entre especies, presentando el diploide *P. montevidense* las células más pequeñas, con un valor promedio de 134,37 x 39,30 μm y el octoploide *P. subintegerrimum* las más grandes, con un valor promedio de 302,47 x 38,18 μm .

Los estomas se ubican exclusivamente en la cara inferior de la lámina (lámina hipostomática) y a nivel de la epidermis o algo elevados, en las líneas laterales, como es característico en *Polystichum* (Kondo 1962, Zhang 1996). En las especies examinadas, el tipo de estoma es un carácter polimórfico, habiéndose observado hasta tres tipos diferentes y adyacentes en la misma fronde. En *Polystichum andinum*, es común observar estomas contiguos compartiendo las mismas células acompañantes. Predominan los estomas polocíticos y anomocíticos, seguidos por los estaurocíticos. Menos frecuentes son los copolocíticos, observados preferentemente en *P. subintegerrimum* y *P. chilense*. Los mismos tipos de estomas han sido reportados para otras especies del género (Kondo 1962, Van Cotthen 1970, 1973, Chandra 1977, Mehra & Soni 1983, Zhang 1996, Roux & Van Wyk 2000). El tamaño de las células oclusivas es muy variable entre las especies. La especie diploide *P. montevidense* presenta las células oclusivas más pequeñas (en vista superficial), con longitudes de 33,86-45,99 μm mientras que en los tetraploides (*P. multifidum*, *P. plicatum* y *P. chilense*) se observó un rango de 72,09-87,86 μm , y en el octoploide *P. subintegerrimum* de 93,02-116,89 μm , por lo que el tamaño de los estomas parece estar relacionado con el nivel de ploidía. El tamaño de los estomas (usualmente el largo de las células guardianas) ha sido correlacionado positivamente con el nivel de ploidía en *Asplenium* (Wagner 1954), *Dryopteris* (Schneller 1974) y *Polystichum* (Barrington 1986, Morero et al. 2015). Sin embargo, sería necesario contar con extendidos de epidermis de más ejemplares por especie, para confirmar los resultados obtenidos en este trabajo. El análisis del tejido epidérmico ha permitido corroborar la

información existente para el género, no obstante, los datos obtenidos tienen relativa significancia taxonómica en el grupo de especies de *Polystichum* estudiado.

El indumento en las especies de *Polystichum* estudiadas comprende pelos y escamas. En todos los taxones se observaron pelos glandulares unicelulares. Si bien se ha hallado un solo tipo de pelo, la distribución en la superficie de la planta, difiere entre las especies, por lo cual resultaría un carácter informativo. En los escasos estudios anatómicos de *Polystichum*, la presencia de pelos ha sido reportada como un carácter raro y observado en plantas jóvenes y de escaso valor taxonómico (Chandra & Nayar 1982, Roux & Van Wyk 2000). Sin embargo en este trabajo, los pelos se han hallado en los ejemplares adultos de todas de las especies y ampliamente distribuidos en los órganos; resultaron especialmente útiles para diferenciar a *P. mohroides* y *P. andinum*, los únicos taxones que presentan pelos glandulares en los indusios, el primero en toda la superficie y, el segundo, sólo en el margen. Además, resulta interesante destacar que la presencia de estas glándulas en otros géneros de Dryopteridáceas, fundamentalmente en *Dryopteris*, *Arachnoides* y *Elaphoglossum*, está asociada a la producción de acilfloroglucinoles, compuestos polifenólicos que han atraído la atención de los químicos desde la antigüedad por sus propiedades antihelmínticas (Socolsky et al. 2012); más aún, estos compuestos han sido utilizados en *Dryopteris* con fines quimiotaxonómicos (Widén et al. 1996, 1997).

Un carácter taxonómico informativo importante en *Polystichum* son las escamas (Barrington 2011). Las escamas son estructuras laminares, multicelulares, con las células organizadas generalmente en una sola capa. Se las encuentra cubriendo densamente la superficie del rizoma y del pecíolo o, regularmente esparcidas, en la cara abaxial de la lámina, donde están generalmente asociadas a los nervios; en este último caso, por ser más pequeñas (2-15 mm), suele denominárselas microescamas. En cuanto a la estructura, en las especies estudiadas, se observó el entramado celular del tipo “conforme” pues las células del margen se orientan del mismo modo que las del área media, en series paralelas al eje mayor de la escama. Según la distribución del color, las hay concoloras o bicoloras, y la tonalidad cambia del anaranjado (en *P. andinum*) hasta el marrón oscuro casi negro

lustroso (escamas basales del pecíolo de *P. plicatum*). La forma de las escamas varía desde filiforme (escamas rizomáticas de *P. plicatum*) hasta anchamente lanceoladas (escamas peciolares de *P. tetragonum*). También pueden encontrarse pelos glandulares asociados al borde de la escama (*P. andinum* y *P. pycnolepis*), o bien sobre la superficie (*P. chilense*, *P. mohrioides* y *P. tetragonum*), o en ambos (*P. montevidense*). Generalmente las escamas se insertan en la epidermis mediante un corto pedicelo. Resulta interesante señalar, que el margen de las escamas en las especies Australes es liso o presenta pequeños dientes; en tanto, las especies andinas, *P. montevidense* y *P. pycnolepis*, además de dientes marginales, presentan cilios largos. Las escamas representan uno de los caracteres informativos más importantes para diferenciar las especies de *Polystichum* Australes (Ver Capítulo V. Taxonomía: Descripciones de las especies y clave de especies).

En la lámina, el mesofilo presenta escasa diferenciación, similar a lo informado para otras especies del género (Ogura 1970). La presencia de parénquima braciforme, caracterizado por las células con proyecciones que delimitan lagunas, también ha sido reportado en géneros de Pteridaceae (Gracano et al. 2001). El espesor del mesofilo puede variar ligeramente entre las especies, así *P. mohrioides* exhibe el mayor grosor (\bar{X} = 460,73 μm), especialmente porque presenta mayor número de capas de parénquima en empalizada y, *P. multifidum* var. *multifidum* y var. *pearcei*, caracterizados por sus láminas membranáceas, son los que presentan el mesofilo más delgado (\bar{X} = 133,13 μm).

No se han encontrado diferencias anatómicas consistentes que permitan diferenciar a *P. chilense* var. *chilense* de *P. chilense* var. *dusenii*. De igual modo, *P. multifidum* var. *multifidum* y *P. multifidum* var. *pearcei* no pueden ser diferenciados con base en sus caracteres anatómicos, sólo el número de hacecillos sería menor en la var. *pearcei*.

Las especies estudiadas exhiben una amplia diversidad en el tamaño, división, indumento y anatomía de las frondes. La combinación de estos caracteres diferenciales se ha utilizado para elaborar una clave dicotómica y delimitar las especies, que se presentan en el Capítulo IV.

2. Caracteres morfométricos en la delimitación de los *Polystichum* Australes

Un patrón bastante claro para la segregación de la mayoría de los taxones emerge del análisis discriminante. En primer término, con base en las variables analizadas se definen tres grupos principales; por un lado, con las pinnas basales menores, que oscilan entre 5-20 mm de largo, se asocian *P. andinum*, *P. mohrioides* y *P. plicatum* y, en el extremo opuesto, *P. tetragonum* y *P. multifidum* var. *multifidum* cuyas pinnas alcanzan un rango de 65-140 mm; entre ambos, con fenotipos intermedios, se encuentran *P. chilense* var. *chilense*, *P. chilense* var. *dusenii* y *P. subintegerrimum*. A la vez, dentro del primer grupo es posible la segregación de *P. plicatum* pues mostró el mayor número de pares de pinnas (20-33) y el menor número de pinnas fértiles (8-17); valores considerablemente menores para el número de pares de pinnas exhiben en conjunto *P. andinum* y *P. mohrioides* (10-23 pares de pinnas y en su mayoría fértiles). Asimismo, en el segundo grupo, la combinación de mayor número de pares de pinnas, menos pinnas soríferas y escamas más anchas distingue a *P. multifidum* var. *multifidum* de *P. tetragonum*. Finalmente, *P. subintegerrimum* y *P. chilense* dos especies muy similares a campo, pueden diferenciarse por presentar el primero, menor cantidad de pinnas y, a la vez, menor número de pinnas fértiles. Los caracteres más importantes que separaron los grupos en el análisis discriminante: la longitud de las pinnas basales, el número de pares de pinnas de la lámina y la cantidad de ellas con soros, fueron de utilidad para la construcción de la clave dicotómica y la delimitación de las especies estudiadas (Capítulo IV, Taxonomía).

Es importante destacar que en el caso de *P. chilense*, los especímenes de la variedad típica y los de la var. *dusenii* muestran solapamiento en ambos ejes canónicos y una elevada tasa de error de clasificación, sugiriendo que no es posible diferenciarlos entre sí, con base en los caracteres morfométricos analizados. Tampoco se han encontrado diferencias sustanciales al comparar caracteres cualitativos tanto anatómicos como exomorfológicos. Históricamente la var. *dusenii* ha causado confusión en su circunscripción e identificación (Christensen 1910, Looser 1968, Rodríguez Ríos 1987), consecuentemente, teniendo en cuenta el conjunto de evidencias morfológicas y

citológicas (ambas variedades son tetraploides), sería pertinente considerar la var. *dusenii* como un sinónimo de *P. chilense*. Con criterios idénticos, se propone considerar a la var. *pearcei* como un sinónimo de *P. multifidum*, aun cuando, por no contar con ejemplares suficientes, no se incluyó esta variedad en el análisis discriminante.

En síntesis, las evidencias morfológicas sugieren que no hay un único carácter que permita separar los taxones estudiados, más bien es necesario una combinación de varios caracteres para su correcta identificación. Esta conclusión resulta consistente con la extrema labilidad morfológica que presentan las especies *Polystichum* (Barrington 2011).



CAPÍTULO III. ESTUDIOS EVOLUTIVOS EN *POLYSTICHUM*:

**FILOGENIA MOLECULAR, EVOLUCIÓN DE ESTADOS DE
CARACTERES MORFOLÓGICOS Y RECONSTRUCCIONES DE
ÁREAS ANCESTRALES**

INTRODUCCIÓN

La posición filogenética de los helechos respecto de las otras plantas vasculares y las relaciones entre las familias de este grupo, no se resolvieron hasta el advenimiento de los avances tecnológicos en biología molecular. El desarrollo de metodologías que permiten proponer hipótesis filogenéticas basadas en datos moleculares y morfológicos, individualmente o combinados en análisis de evidencia total, representan la metodología más ampliamente utilizada para esclarecer la sistemática y resolver las clasificaciones taxonómicas en general y, en este grupo de plantas en particular (Hasebe et al. 1995, Pryer et al. 2004).

Hasta hace algunas décadas, estaban aún en vigencia algunas ideas acerca de la evolución de los helechos relativamente conflictivas e igualmente probables (Barker & Wolf 2010, Christenhusz et al. 2011). Estas hipótesis, basadas en interpretaciones intuitivas de los cambios morfológicos, fueron aplicadas a diferentes esquemas de clasificación (Pichi Sermolli 1977, Tryon & Tryon 1982, Kramer & Green 1990) y, a la fecha, se están desarrollando estudios filogenéticos para ponerlas a prueba. En este sentido, los análisis filogenéticos basados en secuencias de ADN (Pryer et al. 2001, 2004, Schneider et al. 2004, Schuettpelz et al. 2006, Schuettpelz & Pryer 2007), o análisis combinados de evidencias morfológicas y moleculares (Pryer et al. 1995, 2001, Schneider 2007, Lehtonen et al. 2010) han permitido dilucidar y entender los principales aspectos de la historia evolutiva de los helechos (Pryer et al. 2001, 2004, Smith et al. 2006) y proponer esquemas de clasificación supragenéricos basados en un contexto filogenético (Smith et al. 2006, 2008, Schuettpelz & Pryer 2007, Schenider et al. 2009, Lehtonen et al. 2010, Wei et al. 2010, Christenhusz 2011, 2014).

Los estudios filogenéticos publicados hasta el momento (basados principalmente en marcadores de ADN o en la combinación de éstos con datos morfológicos), han permitido resolver la circunscripción de géneros y taxones infragenéricos en diferentes familias de

helechos, como en Polypodiaceae (Sundue 2010a, Sundue et al. 2010b), Hymenophyllaceae (Hennequin et al. 2006), Ophioglossaceae (Hauk et al. 2003), Pteridaceae (Sigel et al. 2011) y también en las Dryopteridaceae (Liu et al. 2007, Moran et al. 2007, Libor et al. 2009, Moran et al. 2010a,b), donde *Polystichum* no fue la excepción (Little and Barrington 2003, Perrie 2000, 2003 a,b, Li et al. 2004, 2008, Driscoll & Barrington 2007, Lu et al. 2007, Le Péchon et al. 2016 a,b). La primera hipótesis filogenética, basada en el análisis combinado de secuencias del gen del cloroplasto *rbcl* y de 41 caracteres morfológicos cualitativos (Little & Barrington 2003), incluyó 34 especies del género de Norteamérica, América Central, Andes (del Norte y Centrales), Europa, Asia (Sino-Indo-Himalaya), Nueva Zelanda y Australia, además de 21 representantes de otros géneros de Driopteridáceas. Esta filogenia sugiere que el ancestro de los *Polystichum* y géneros afines (*Phanerophlebia*, *Cyrtomium* y *Cyrtomidictyum*), se caracterizó por incluir escamas ciliadas en la base del pecíolo, láminas 1-pinnadas, últimos segmentos con el extremo escarioso, indusio peltado y microescamas. Recientemente Le Péchon et al. (2016a) publicaron la última filogenia propuesta para el género basada en cuatro marcadores del cloroplasto (*rbcl*, *psbA-trnH*, *rps4-trnS*, *trnL* y *trnL-F*), confirmando a *Polystichum* como monofilético y a *Phanerophlebia* y *Cyrtomium* como grupos hermanos; en tanto, *Cyrtomidictyum* quedó anidado en *Polystichum*. Asimismo, estos autores propusieron que la monofilia de *Polystichum* estaría soportada en varias características morfológicas: láminas 1–3-pinnadas con el ápice pinnatífido, sin una pinna apical diferenciada; venación principalmente libre, rara vez anastomosada, con 1-2 filas de areolas.

Recientemente, se han realizado estudios sistemáticos, filogenéticos y biogeográficos para el grupo de *Polystichum* de Brasil (Condack 2012, Condack et al. 2013) y el clado Andino (McHenry & Barrington 2014). Las especies del clado Andino (que habitan desde Venezuela hasta el centro de Argentina) han divergido de un ancestro putativo que habría habitado en el sur de México. Durante la dispersión de este linaje a lo largo de la cordillera, algunas de las especies andinas se extendieron por la cara este hasta alcanzar el sureste de Brasil, Uruguay y la Argentina (McHenry & Barrington 2014). En

nuestro país, tres especies andinas (*P. montevidense*, *P. platyphyllum* y *P. pycnolepis*) habitan el norte y centro de Argentina, encontrando el límite más austral en las Sierras Pampeanas del Centro y sierras de Buenos Aires. Sin embargo, se desconocen las relaciones filogenéticas entre el grupo Austral de *Polystichum* y el linaje Andino, como así también las relaciones con otros miembros del género del mundo.

Asimismo, no hay antecedentes de las relaciones filogenéticas entre las especies del clado Austral. Cabe aclarar que *P. mohrioides* (una de las especies Australes) ha sido incluida en varias filogenias del género (Little & Barrington 2003, Li et al. 2004, Driscoll & Barrington 2007. Le Pechón et al. 2016 a,b), pero la posición filogenética de *P. mohrioides* en las filogenias presentadas no ha sido resuelta; además, se ha advertido que es dudosa la identidad del espécimen analizado, pues el sitio de colección reportado está fuera de su rango de distribución geográfica.

De acuerdo a lo anteriormente presentado, se plantean las siguientes preguntas:

- ¿Es monofilético el grupo Austral?, ¿cuál es la relación filogenética de los *Polystichum* Australes con el linaje Andino y con otros miembros del género?

- ¿Cuáles son las relaciones filogenéticas entre las especies de los *Polystichum* Australes? ¿Se recuperan en la filogenia los mismos límites específicos que se proponen en el marco de la taxonomía clásica?

A la par, y para comenzar a comprender la historia evolutiva del grupo, sería interesante contestar a: ¿Los ancestros putativos del linaje Austral y sus especies, qué áreas geográficas habrían ocupado?

Finalmente, ¿cuáles habrían sido las fuerzas evolutivas que modelaron el patrón de distribución actual de las especies?

A modo de hipótesis es pertinente anticipar que el grupo Austral de *Polystichum* es monofilético y que no está estrechamente relacionado en términos filogenéticos con el

grupo Andino, pues para las especies Australes se reconocen características morfológicas y citológicas diferentes que las relacionarían a las especies de Australia y Nueva Zelanda. Además, están confinadas al extremo sur del continente (región patagónica de Argentina y Chile) donde, salvo por *P. plicatum* que llega a colonizar las Sierras de Buenos Aires, no coexisten con especies del linaje Andino. Asimismo, es posible que cambios en la ploidía y en algunos caracteres morfológicos estuvieran asociados a los eventos de cladogénesis, y que, el ancestro putativo del clado hubiera habitado en Sudamérica austral, tierras en donde habrían diversificado todas las especies actuales.

Para responder a estas preguntas y poner a pruebas estas hipótesis, se han propuesto los siguientes objetivos:

1. probar la monofilia del clado Austral y evaluar las relaciones de parentesco entre los *Polystichum* Australes y otros grupos de *Polystichum* del mundo, especialmente el clado Andino, con base en datos moleculares;
2. evaluar las relaciones filogenéticas dentro del grupo Austral y probar si las especies definidas tradicionalmente se recuperan a través de las hipótesis filogenéticas;
3. analizar los posibles cambios en la ploidía y morfología durante la diversificación (cladogénesis) de los *Polystichum* Australes;
4. proponer posibles áreas geográficas ancestrales para el clado.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material utilizado

Con la finalidad de evaluar las relaciones de parentesco entre los *Polystichum* Australes y el clado Andino, probar la monofilia de los *Polystichum* Australes y evaluar los límites específicos del grupo, se consideró un conjunto de datos moleculares (*set A*) de 45 terminales o taxones, entre ellos: 31 terminales representan a 31 especies tradicionales [representativas de diferentes centros de diversidad propuestos por Barrington & Driscoll (2005)] y 14 terminales representan las siete especies tradicionales de los *Polystichum* Australes. Cabe mencionar que sólo para las especies conflictivas se consideró a más de un representante; de esta manera, el muestreo taxonómico quedó constituido así: *P. andinum*, *P. chilense*, *P. tetragonum* con un único representante, *P. plicatum* con dos, *P. subintegerrimum* con cuatro, *P. mohriodes* con tres y *P. multifidum* con dos (var. *pearcei* y var. *multifidum*). Además, se adicionaron representantes del Clado Andino (*P. platyphyllum* y *P. montevidense*). Finalmente, un segundo conjunto de datos (*set B* – con base en los resultados obtenidos a partir de análisis filogenéticos del *set A*) fue construido para desarrollar los análisis de reconstrucción tanto de áreas ancestrales como de estado de carácter ancestral (citológico y morfológico). En este segundo conjunto de datos, cada especie está representada una vez y comprende a las siete especies Australes de *Polystichum* y a las 31 especies antes mencionadas. En todos los casos, *P. tripteron* fue seleccionado como grupo externo a fin de enraizar los árboles filogenéticos. El grupo externo fue elegido en vista de las relaciones de ancestría recuperadas en análisis filogenéticos previos (Little & Barrington 2003, Li et al. 2008, Driscoll & Barrington 2007).

2. Extracción de ADN

En el Apéndice 4, se indica la procedencia de las muestras que se emplearon para la extracción del ADN para todos los representantes del grupo Austral y Andino. Se trabajó de la siguiente manera: se extrajo el ADN genómico total de muestras de pinnas/pínnulas

conservadas en sílica gel y almacenadas a -80°C, provenientes de viajes de campo realizados a la Patagonia argentina, al Parque Nacional Puyehue y al Archipiélago Juan Fernández (Chile). Los especímenes de herbario de todas las colecciones fueron depositados en el Herbario del Museo Botánico (CORD). Las muestras de *P. mohrioides* (de Islas Malvinas), fueron donadas por Richard Lewis (Herbario Kew). Cuando no había material de colecciones propias, el ADN fue extraído de especímenes de herbario. La extracción de ADN genómico se realizó siguiendo el protocolo modificado de CTAB (Doyle & Doyle 1987). La selección de los marcadores utilizados y la amplificación por PCR y posterior secuenciación de los *Polystichum* Australes y de tres especies Andinas (*P. montevidense*, *P. platyphyllum* y *P. pycnolepis*) se realizaron en el laboratorio de Biología Molecular (Plant Biology) de la Universidad de Vermont (USA) bajo la dirección del Dr. D. Barrington y de acuerdo a sus trabajos previos (Little & Barrington 2003, Driscoll & Barrington 2007).

Las secuencias de especies de *Polystichum* de otras regiones del mundo empleadas en las matrices, fueron obtenidas a partir de la colaboración en el proyecto de “Filogenia Mundial de *Polystichum*” dirigido por el Dr. D. Barrington y la contribución de la Dra. C.-X. Li (Instituto Nanjing Institute of Geology and Palaeontology, China).

3. Amplificación, secuenciamiento de los marcadores génicos y construcción de la matriz de datos.

Se amplificaron cuatro marcadores del cloroplasto usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para cada especie se utilizaron dos genes: *rps4* y *rbcl*, y dos espaciadores intergénicos: *tmL-F* y *trnS-rps4*. Los cebadores para la amplificación y secuenciamiento (directos y reversos) fueron tomados de la literatura, como se detalla: *rbcl* (Little & Barrington 2003), *trnS-rps4* (Shaw et al. 2005), *trnL-F* (Taberlet et al. 1991), *rps4-trnS* (Souza-Chies et al. 1997); en la Tabla 12 se muestran las secuencias de los cebadores. Para la amplificación de los marcadores se siguieron las condiciones para PCR descritas en Shaw et al. (2005). Las PCR fueron realizadas en termocicladores TC-312 o

TC-3000 (Techne, Burlington, New Jersey, USA). Cada reacción de PCR se realizó con alícuotas de 25µL, con los siguientes componentes: 1µl del ADN extraído de la muestra, 100 µg/mL de BSA, 1 µM de cada cebador, 1X ExTaq buffer (TaKaRa, Gene Clone, Madison, WI, USA), 200µM de cada dNTP, 0.65 U Ex Taq polimerasa (TaKaRa) y 17,85 µL de agua bidestilada para llevar al volumen total de 25 µL. Todas las secuencias fueron amplificadas como sigue: desnaturalización inicial a 94°C por 7 minutos, seguido por 40 ciclos (94°C por 30 segundos, 58°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto) y una extensión final a 72°C por 7 minutos. Los productos de PCR fueron purificados usando ExoSAP-IT (USB Corporation, Cleveland, OH, USA). Para la secuenciación de los productos purificados de PCR se empleó una reacción de secuencia de ciclos usando el BigDye Terminator Cycle Sequence Ready Reaction Kit v. 3.1 (Perkin–Elmer/Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). La secuenciación se realizó directamente desde ambos extremos usando los cebadores de la amplificación, en un ABI Prism 3100-Avant Genetic Analyzer (Vermont Cancer Center DNA Analysis Facility, Burlington, VT, USA). Luego de la revisión y evaluación de las secuencias directas (forward sequences) y reversas (reverse sequences) se generaron las secuencias consensos para cada marcador a partir de los cromatogramas; estas últimas fueron generadas en el programa Geneious Pro v.5.0.3 (Drummond et al. 2007). El alineamiento de las secuencias consenso para cada marcador y taxón se desarrolló a través del algoritmo MUSCLE (Edgar 2004) tal y como lo implementa MEGA 5 (Tamura et al. 2011).

Para evaluar los niveles de congruencia a través de cada conjunto de datos y su influencia sobre la matriz combinada, se desarrolló el test ILD (*Incongruence Length Difference Test*, Farris et al. 1994, Hipp et al. 2004) con 1000 permutaciones, utilizando el programa TNT v1. 1 (Goloboff et al. 2008) (*ILD.run script*). Dado que este test puede generar falsos positivos para “presencia de incongruencia” (Hipp et al. 2004), su resultado sólo se interpretó como medida de incongruencia general entre las particiones y no para identificar incongruencias por taxones o nodos específicos. La prueba *ILD*, que se estimó para cada marcador y para el conjunto de datos proveniente de la codificación de “gaps”, demostró incongruencia no significativa (P= 0,39).

Tabla 12. Secuencias de los cebadores usados para la amplificación y secuenciación de los marcadores cloroplásticos y referencias.

Region del ADN	Nombre del cebador	Secuencia (5'-3')	Referencia
<i>trnL-F</i>	<i>trnL</i>	.GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC	Taberlet et al. 1991
	<i>trnF</i>	ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG	
<i>trnS-rps4</i>	<i>trnS</i>	TAC CGA GGG TTC GAA TC	Shaw et al. 2005
	<i>rps4</i>	ATG AAT T (A/G)T TAG TTG TTG AG	Li et al. 2008
<i>rbcl</i>	F	ATG TCA CCA CAA ACA GAA ACT AAA GCA AGT	Little & Barrington 2003
	F	CTG CTT ATT CTA AGA CTT TC	
	F	TCA TCG TGC AAT GCA TGC	
	R	TCA CAA GCA GCA GCT AGT TCA GGA CTC	
	R	CAT GCG TAA TGC TTT GGC CAA	
	R	ATA AGC AGG AGG GAT TCG CAG ATC	
<i>rps4</i>	<i>rps5'</i>	ATG TCS CGT TAY CGA GGA CCT	Souza-Chies et al 1997
	<i>rps'3</i>	ATA TTC TAC AAC TAA CAA CTC	

Los “gaps” representan una considerable cantidad de datos que pueden mejorar los estudios filogenéticos por incremento en la resolución de los soportes nodales. Hallazgos recientes sugieren que la inclusión de los “gaps” como caracteres en los análisis filogenéticos pueden ser especialmente relevantes para estudios basados en datos de ADN del cloroplasto porque los “indels” (= inserción/delección) representan una gran proporción de la información filogenética para las regiones del cloroplasto en relación al genoma nuclear (Edgan & Crandall 2008). Por lo expuesto anteriormente se ha decidido codificar todos los “indels” representados por “gaps” en los alineamientos de secuencias múltiples. La codificación se implementó de acuerdo a Simmons & Ochoterena (2000) tal y como lo implementa el programa FastGap (Löytynoja & Goldman 2005, 2008). Este programa convierte todos los “indels”, en posiciones diferentes a las de comienzo y/o fin, a una matriz de caracteres binarios de presencia/ausencia. Finalmente, el conjunto de datos

resultó en una matriz que contenía dos bloques: (1)- cuatro regiones de ADN y (2)- datos binarios provenientes de la codificación de “gaps”.

4. Análisis filogenéticos

Los análisis de Inferencia Bayesiana (IB) se implementaron en *Mr. Bayes* v. 3.2.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). La evaluación del modelo de sustitución que mejor explica el conjunto de datos moleculares es el GTR+G+I, el mismo fue estimado utilizando los criterios “Akaike Information Criterion” (AIC) y “Bayesian Information Criterion” (BIC) implementados en JModelTest 0.1.1 (Posada, 2008). El modelo utilizado para la partición correspondiente a los “gaps” fue el GTR, con distribución gama de acuerdo a las recomendaciones del autor del programa (Ronquist et al. 2012). Se corrieron cuatro cadenas de “Monte Carlo Markov” (MCMC) simultáneas durante 10.000.000 de generaciones. Los árboles se muestrearon cada 1.000 generaciones y se eliminó el 25% inicial de parámetros y árboles en un proceso de *burn-in*. Se obtuvo un árbol de consenso de mayoría (del 50%) con valores de probabilidad a posteriori (PP) para cada nodo. La longitud de las ramas del consenso fue estimada por el programa como valores promedio sobre los árboles muestreados y representan número de sustituciones.

5. Análisis de las tendencias de cambio en la ploidía y en los estados de carácter morfológico en *Polystichum*

A efectos de analizar la evolución morfológica a través del clado Austral y reconstruir los posibles estados de caracteres ancestrales de este grupo, se utilizó el método de máxima verosimilitud incluido en el paquete de Reconstrucción de Estados Ancestrales (Ancestral State Reconstruction Package), implementado en el programa Mesquite v. 2.75 (Maddison & Maddison 2011). El archivo de entrada para Mesquite consistió en los 7500 árboles *post-burn* de los análisis de inferencia bayesiana (corridos en *Mr. Bayes*) provenientes de la matriz de datos concatenados (*rps4-trnS*, *rps4*, *rbcL*, *trnL-F* + “gaps”), usando un total de 38 taxones terminales. El árbol consenso del 50% de mayoría se calculó en Mesquite. Los estados de caracteres morfológicos se establecieron siguiendo los

criterios de Little & Barrington (2003), Barrington (2011), Zhang & Barrington (2013)(Tabla 13). La información citológica y los estados de caracteres morfológicos fueron codificados a partir de observaciones de especímenes de herbario e información de la literatura (Barrington 1995, Little & Barrington 2003, Barrington 2011, Zhang 2012, Zhang & Barrington 2013). La matriz resultante se muestra en el Apéndice 5.

Tabla 13. Caracteres y estados registrados

Carácter	Estados del carácter
1. Ploidía	Diploide 0; tetraploide 1; octoploide 2
2. Forma de la lámina	Linear 0; lanceolada 1 ; elíptica ancha 2
3. Extremo de la lámina	Breve 0; acuminado 1; pinnatífido 2
4. Disposición pinnas basales	Descendentes 0; perpendiculares 1; ascendentes 2
5. Espínulas en los segmentos	Ausentes 0; fuertes 1; débiles 2
6. Indusio	Ausente 0; presente 1 ; algunas veces presente 2
7. Bulbillos	Ausentes 0, presentes 1
8. Cilios en el margen	Ausentes 0, presentes 1

6. Reconstrucciones de las áreas ancestrales de distribución

La reconstrucción de las áreas ancestrales se realizó en el programa RASP beta 1 (Reconstructing Ancestral Areas in Phylogenies) (Yu et al. 2010, 2011). Este programa implementa un criterio Binario Bayesiano MCMC (BBM), análisis de curvas de tiempos-eventos y métodos del análisis de Dispersión-Vicarianza (S_DIVA). Once áreas correspondientes a los centros de diversidad propuestos por Driscoll & Barrington 2005, fueron definidas para los análisis biogeográficos: A –Sino-Japonés; B –[Sudamericano] Austral; C –Neozelandés; D –Australiano; E –Brasileño; F –Africano; G –Antillano; H –Andino; I –Circumboreal; J –Norteamericano; K –Indo-Himalayo. El número máximo de áreas ancestrales establecido fue de dos áreas para cada especie en la reconstrucción, permitiendo ancestros ampliamente distribuidos.

Los datos de entrada para RASP consistieron en 7500 árboles obtenidos después de descartar los árboles del *burning*, de un análisis de inferencia Bayesiana corrido en MrBayes (modelo GTR) y de acuerdo al conjunto de datos antes explicitado. Las cadenas MCMC se corrieron simultáneamente para 5.000.000 de generaciones y el estado de reconstrucción se muestreó cada 1.000 generaciones. Se utilizó el modelo Jukes-Cantor + Gamma (JC + G) para los análisis de BBM, con una distribución nula de la raíz.

RESULTADOS

1.Descripción de los marcadores

Los cuatro marcadores fueron secuenciados con éxito para todos los taxones del clado Austral; en algunas muestras no fue posible obtener la totalidad de ellos, y en ese caso se completaron con información previa (secuencias obtenidas desde el GenBank). La Tabla 14 resume las características de la matriz de datos generada.

Tabla 14. Información de las secuencias obtenidas y modelos de evolución molecular de los cuatro marcadores del cloroplasto y la matriz combinada.

	Regiones del cloroplasto				Matriz combinada
	<i>trns-rps4</i>	<i>trnL-trnF</i>	<i>rbcL</i>	<i>Rps4</i>	
Número de taxones (set A/Set B)	38/45	38/45	38/45	38/45	38/45
Longitud media de la secuencia (pb)	513	417	1367	524	2821
Longitud media de las secuencias alineadas (sitios)	482	389	1216	525	2612
Modelo de evolución molecular (IF)	GTR+G	GTR+G+I	GTR+G	GTR+G+I	GTR+G+I

2. Estudios filogenéticos

Las especies de *Polystichum* analizadas se agrupan en dos clados (Fig. 23): el clado I (PP= 1) integrado por las especies Australes y los *Polystichum* de los siguientes centros de diversidad (Driscoll y Barrington 2005): Australiano, Neozelandés, Sino-Japonés, Brasileño, Africano y Norteamericano y, el clado II (PP= 0,88), que comprende a los Centroamericanos y Andinos y una especie (*P. lonchitis*) de distribución circumboreal.

En el clado I, los *Polystichum* Australes y los grupos Australiano y Neozelandés constituyen un grupo monofilético (PP= 0,86) que resulta hermano del grupo Sino-Japonés (PP= 0,95). Hermano a este linaje está el clado integrado por el grupo Norteamericano, Africano y *P. caudescens* de Brasil (PP= 0,93). En el clado II, las especies neotropicales fueron recuperadas en dos grupos monofiléticos: el linaje Centroamericano de especies indusiadas, algunos de cuyos miembros también habitan Centroamérica (PP= 1) y el linaje Andino (PP= 0,80), siendo *P. rhizophyllum* hermano de ambos linajes. *P. lonchitis* resultó la especie hermana al clado II.

Los *Polystichum* Australes constituyen un grupo monofilético soportado por alto valor de probabilidad (PP=0,98). El análisis de reconstrucción filogenética mostró el mismo conjunto de especies agrupadas en tres clados: el **A**, integrado por *P. andinum* y los clados B y C, que forman un grupo monofilético recíproco (PP= 1). En **B** (PP= 1), *P. chilense* y *P. multifidum* son monofiléticos (PP= 0,99) y *P. tetragonum* es el taxón hermano. En **C**, *P. mohrioides* y *P. subintegerrimum* constituyen un grupo monofilético (PP= 1) y *P. plicatum* es hermano al clado B. El clado **A** está constituido por *P. andinum* y es el linaje que primero diverge en los *Polystichum* Australes. El clado hermano a los *Polystichum* Australes comprende las especies australianas *P. proliferum* y *P. fallax*, aunque el soporte fue bajo (PP= 0,63) (Fig. 23).

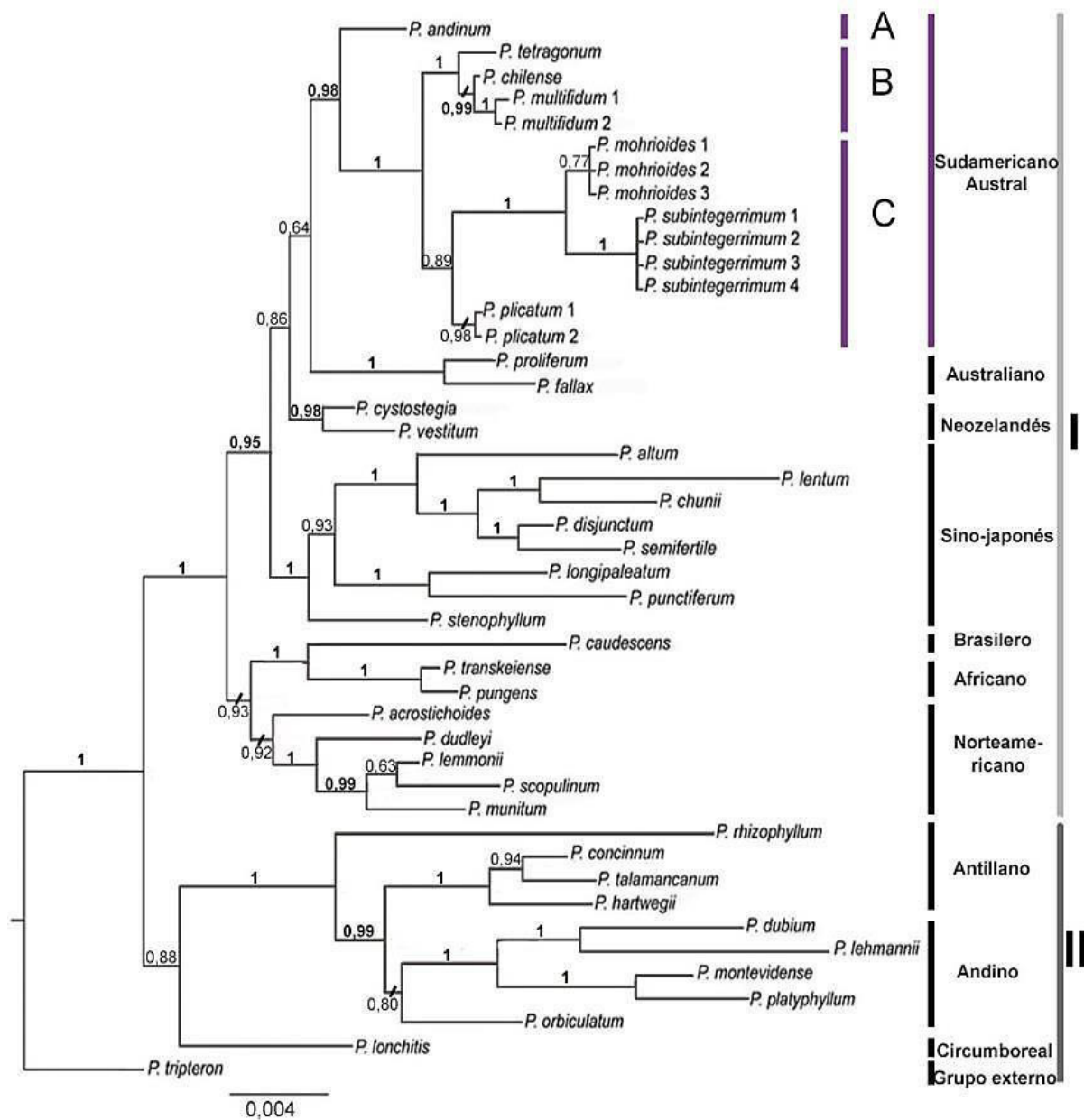


Fig. 23. Consenso de mayoría obtenido a partir del análisis bayesiano de la combinación de los marcadores moleculares: *trnL-F*, *trns-rps4*, *rbcl* y *rps4*. Las probabilidades *a posteriori* (PP) se especifican para cada rama; en negrita se indican los valores superiores o iguales a 0,95. La escala al pie indica sustituciones por sitio.

3. Evolución de estados de caracteres morfológicos y reconstrucciones de áreas ancestrales

A partir de las hipótesis filogenéticas obtenidas, se estimaron las tendencias evolutivas de los cambios en la ploidía y en siete estados de caracteres morfológicos para cada ancestro putativo (Figs. 24 y 25). Los resultados sugieren que el ancestro del clado de los *Polystichum* Australes habría sido tetraploide (PP= 1), sin bulbillos gemíferos (PP= 1), con la lámina linear (PP= 0,75) y el extremo pinnatífido (PP=0,54), los segmentos (pinnas/pínnulas) sin espínulas en el margen (PP= 0,65), las pinnas basales perpendiculares al raquis (PP= 0,76) y las escamas del pecíolo sin cilios (PP= 1). Además habría presentado los soros cubiertos por un indusio (PP= 1). Un único evento de cambio en la ploidía (desde tetraploide a octoploide en *P.subintegerrimum*) se observa en el clado Austral. El ancestro hipotético del que habría divergido el clado que incluye a los *Polystichum* Australes, los de Nueva Zelanda y Australia habría sido tetraploide (Fig. 24 B).

En el ancestro putativo de *P.multifidum*, *P. chilense* y *P. tetragonum* (clado A) se reconstruyeron los siguientes estados de carácter: las láminas elípticas anchas y el extremo pinnatífido, las pinnas basales descendentes y las espínulas del margen de los segmentos débiles (Fig. 25 A,C,D).

Por otra parte, se observó que los bulbillos gemíferos se han originado independientemente en diferentes linajes en las especies de *Polystichum* analizadas. Los bulbillos son más frecuente entre las especies del clado Sino-Japonés (*P. stenophyllum*, *P. lentum*, *P. chunii* y *P. disjunctum*), aparecen aisladamente en una especie del grupo Andino (*P. platyphyllum*) y en uno de los representantes de Australia (*P. proliferum*). La ausencia de bulbillos es homogénea en el clado Austral (Fig. 24 A). Además, se observó que la pérdida del indusio también ha ocurrido de forma independiente en varios linajes, aunque está presente en todas las especies del clado Austral (Fig. 24 C); contrariamente, en el clado Andino, la ausencia de indusio es homogénea.

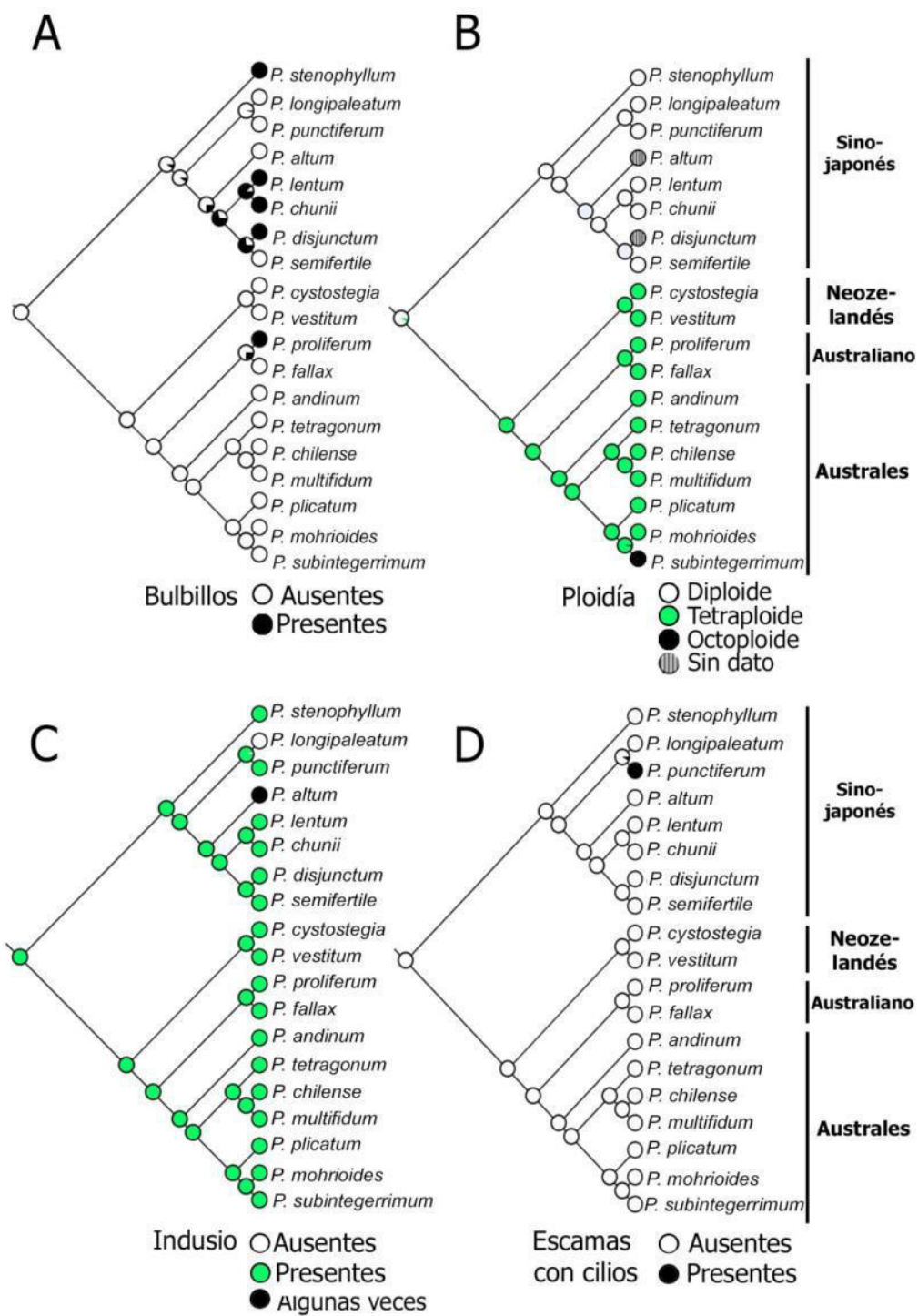


Fig. 24. Reconstrucción de máxima verosimilitud de estados de caracteres morfológicos ancestrales para bulbillos, ploidía, indusio y escamas con cilios; los diagramas circulares indican la probabilidad de cada estado de carácter ancestral.

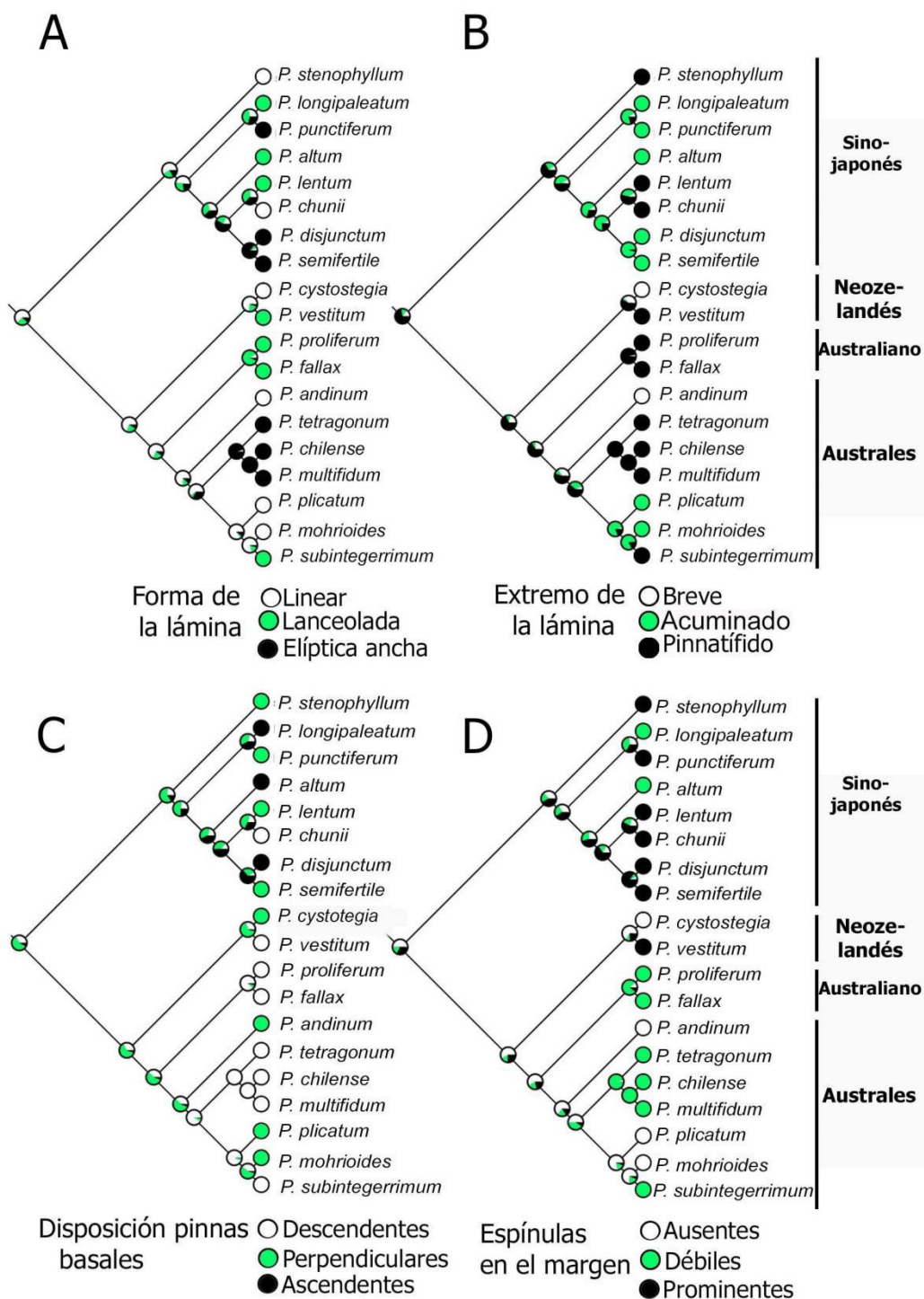


Fig. 25. Reconstrucción de máxima verosimilitud de estados de caracteres morfológicos ancestrales para la forma y extremo de la lámina, disposición de las pinnas basales y espínulas en el margen; los diagramas circulares indican la probabilidad de cada estado de carácter ancestral.

La reconstrucción de las áreas ancestrales por BBM se presenta en la figura 26, A-C. El ancestro putativo del clado de los *Polystichum* Australes habría habitado en la misma área geográfica ocupada actualmente por las especies Australes (P= 100%), mientras que el ancestro común del clado Austral y de las especies de Australia y Nueva Zelanda habría habitado tanto en Australia como en el extremo sur de Sudamérica (P= 100%) (Fig. 26 C, círculo amarillo). Un evento de vicarianza (P= 100) sería la explicación más plausible que explicaría la distribución del ancestro en este nodo.

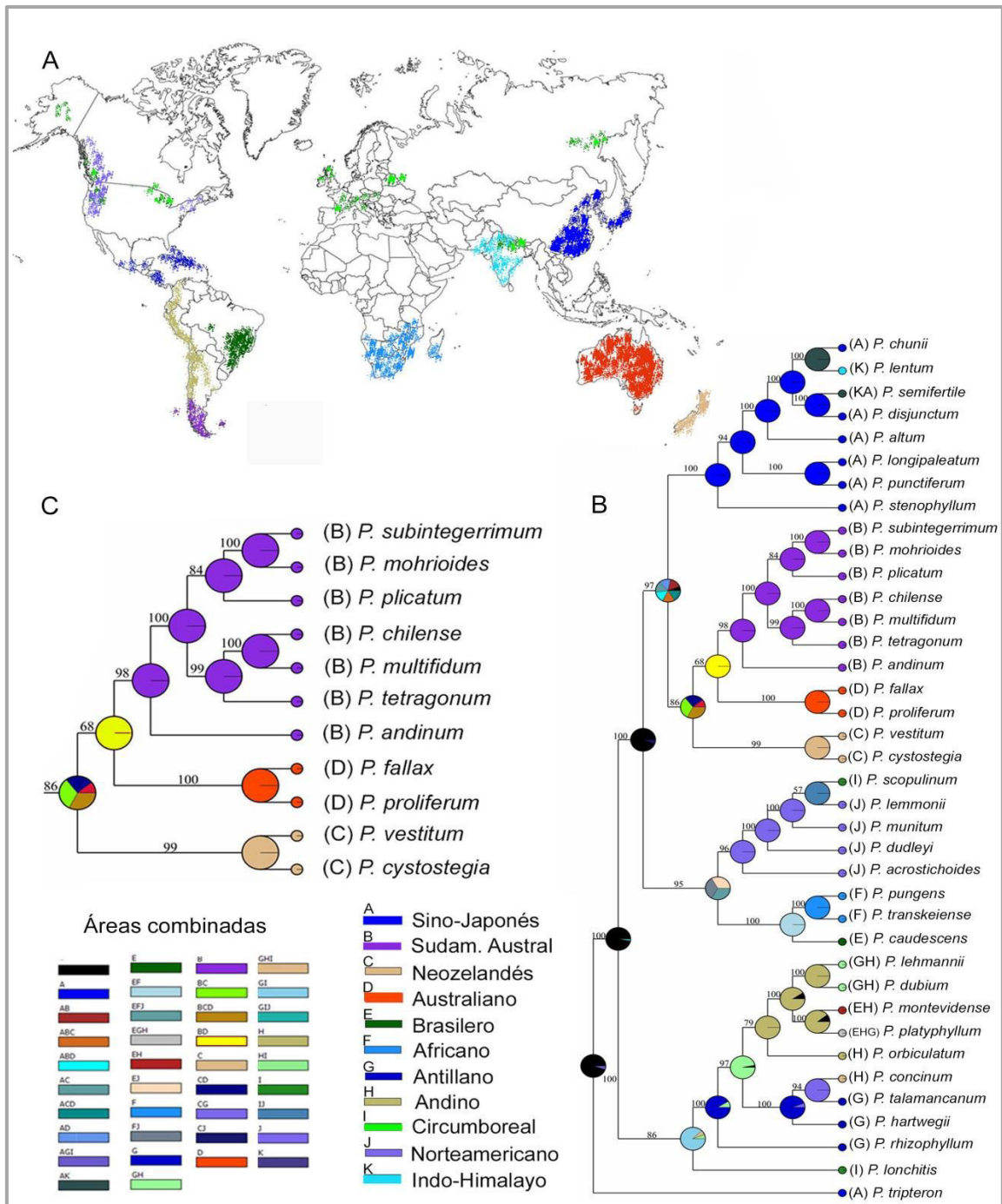


Fig. 26. Reconstrucción de áreas ancestrales de los *Polystichum* Australes. A. Áreas geográficas correspondientes a los centros de diversidad propuestos por Driscoll & Barrington 2005. B. Reconstrucción de áreas ancestrales de *Polystichum*. C. Detalle del clado integrado por los *Polystichum* Australes, australianos y de Nueva Zelanda. Los diagramas circulares en los nodos representan las probabilidades de las áreas de distribución para cada ancestro.

DISCUSIÓN

1.Relaciones filogenéticas en *Polystichum*

Las relaciones evolutivas que se presentan entre los principales clados de la filogenia son, en general, congruentes con aquellas encontradas en estudios filogenéticos previos del género (Little & Barrington 2003, Perrie et al. 2003b, Li et al. 2004, 2008, Lu et al. 2007, Driscoll & Barrington 2007, McHenry & Barrington 2014, Le Péchon et al. 2016a,b).

El conjunto de especies de *Polystichum* analizado se resuelve en dos clados: Clado I y Clado II, que también son recuperados en las filogenias de Little & Barrington (2003), Driscoll & Barrington (2007) y Le Péchon et al. (2016a,b). Los *Polystichum* Australes se anidan junto con los de Nueva Zelanda y Australia en el clado I. Le Péchon et al. (2016b) no pudieron probar la monofilia de las especies de Australasia (Australia + Nueva Zelanda), aunque ellas fueron recuperadas como monofiléticas en dos estudios anteriores (Perrie et al. 2003a, Li et al. 2007). El Clado I también comprende un grupo heterogéneo de especies de diferentes centros de diversidad del mundo (Africano, Norteamericano, Brasileño y Sino-japonés), los mismos grupos de especies fueron recuperados por primera vez (en subclados con moderado a bajo soporte) por Driscoll y Barrington (2007). Las relaciones entre estos linajes, en particular las biogeográficas se han comenzado a dilucidar; es así que Condack (2010, 2012) encontró dos linajes divergentes en las especies brasileras: uno Andino y el otro relacionado con el Africano (en el que se halla *P. caudescens*).

Los resultados obtenidos en la reconstrucción bayesiana recuperan a los *Polystichum* Australes como un grupo monofilético y resuelven a los *Polystichum* de Australia como el clado hermano; a su vez, las especies de Nueva Zelanda constituyen el clado hermano de ambos. La monofilia de los *Polystichum* Australes y sus relaciones con otros miembros del género se reportan en este trabajo por primera vez.

El ancestro del clado: “Austral+Australiano+Neozelandés” habría sido tetraploide y en este ancestro habría ocurrido el cambio de ploidía, de diploide a tetraploide, por lo cual

este linaje es el resultado de eventos de poliploidización antiguos, presunción ya apoyada por los datos citológicos (Morero et al. 2015).

En el clado Austral, *P. andinum* habría sido el primer taxón en divergir durante la diversificación de este clado. Esta especie alto-andina tiene láminas lineares, con las pinnas basales perpendiculares al raquis, el margen de los segmentos sin espínulas y las escamas sin cilios, compartiendo la mayoría de los estados de caracteres con el ancestro putativo del clado. Durante la diversificación de los *Polystichum* Australes se diferenciaron dos linajes distintivos, el clado **B** que incluye a *P. multifidum*, *P. chilense* y *P. tetragonum* y el clado **C** constituido por *P. plicatum*, *P. mohrioides* y *P. subintegerrimum*. Morfológicamente, las especies del clado B conforman un grupo homogéneo que se distingue por las siguientes características: láminas elípticas anchas y el extremo pinnatífido, los segmentos con espínulas débiles en el margen y las pinnas basales descendentes. Por su parte, en el clado C, *P. plicatum* es afín a *P. mohrioides* compartiendo las láminas lineares y el extremo acuminado, la disposición de las pinnas basales perpendiculares al raquis y los segmentos sin espínulas en el margen, siendo además, ambos tetraploides. En tanto, *P. subintegerrimum* presenta estados de caracteres compartidos con los miembros de ambos clados. Siendo esta última especie un octoploide y, muy probablemente de origen aloploiploide, es factible que en su origen híbrido hayan participado parentales de ambos clados. Según Soltis et al. (2003) se ha comprobado que los aloploiplolides representan híbridos permanentes pues poseen genes (y productos de genes) de ambos parentales, exhibiendo por ello mayor variación morfológica e inclusive, mayor homeostasis fisiológica.

La reconstrucción de los estados ancestrales de caracteres indicaría una clara tendencia de las especies Australes a la reducción o pérdida de las espínulas del margen, a diferencia de los *Polystichum* Andinos que tienen espínulas prominentes en el margen.

P. tetragonum (del clado B) es hermana de *P. multifidum* y *P. chilense*. Cabe recordar (cfr. Capítulo 1), que *P. tetragonum* es un microendemismo que vive en las Islas Juan Fernández, mientras que *P. multifidum* y *P. chilense* son especies simpátricas que habitan

en el continente. Stuessy et al. (1990, 2006) proponen que la anagénesis habría sido el proceso de especiación que “originó” a *P. tetragonum*. En este contexto, el ancestro -o población ancestral- de *P. tetragonum* tuvo que haber habitado el continente, y luego haber llegado a las islas para comenzar el proceso de diferenciación post-aislamiento. El escenario de la especiación por anagénesis sería el único más plausible, dado el origen volcánico de las Islas y la reciente formación de las mismas (4-2 Ma., Crawford et al. 1998), aunque estudios de datación de linajes serían necesarios para poner a prueba estas hipótesis. De acuerdo al patrón filogenético obtenido, el ancestro putativo -o la población ancestral hipotética- de este clado, habría dado lugar a dos linajes: 1- al linaje de *P. tetragonum* que habría llegado a las islas post-divergencia, y cuya población ancestral en el continente ya no existe, o bien, el ancestro putativo pudo haber llegado a las islas dando lugar in situ a *P. tetragonum*; 2- al ancestro hipotético para *P. multifidum* y *P. chilense*, a partir de quien habrían divergido sendas especies en el continente. La posición filogenética de *P. tetragonum* puede deberse al mantenimiento de polimorfismos ancestrales dado el aislamiento geográfico, como ocurriera en otros linajes de plantas que experimentaron divergencia y especiación post-eventos de dispersión (Popp et al. 2011, Amarilla et al. 2015). El tamaño poblacional de *P. tetragonum* es relativamente pequeño y ha sido estimado en ca. 3000 individuos (Ricci 2006). Suponiendo que este tamaño ha sido medianamente constante desde la divergencia de esta especie, quizás pudo haber contribuido al mantenimiento de los polimorfismos ancestrales aquí propuestos. En tanto, la posición filogenética de *P. chilense* y *P. multifidum* serían el resultado de una divergencia continental, donde la distribución relativamente amplia, la abundancia y la simpatría entre las especies (con posibilidad de entrecruzamiento durante el proceso de divergencia y aislamiento), pudo haber ocasionado la diferenciación molecular de las mismas y por ello hoy se recuperan en posiciones más divergentes. Múltiples linajes, y sobre todo aquellos que comparten representantes en el continente y en las islas, suelen mostrar relaciones filogenéticas semejantes a las encontradas en esta tesis, en este sentido explicaciones semejantes a las aquí propuestas han sido desarrolladas -para estos casos- en Stuessy et al. (2014) y trabajos allí citados.

Polystichum mohrioides, es otro endemismo insular que habita en las Islas Malvinas y en las Islas Georgias del Sur, distantes ca. 520 y 1750 km respectivamente, del punto más cercano a la costa patagónica.

Las Islas Malvinas, constituyen un archipiélago que comprende dos islas principales (Gran Malvina y Soledad) y más de 780 pequeñas islas. La yuxtaposición de este archipiélago entre Antártida, Sudamérica y otras islas del Atlántico Sur y su elevado número de especies endémicas, le otorgan una gran importancia biogeográfica (McDowall, 2005; Morrone & Posadas, 2005). Si bien las Islas Malvinas están relacionadas física y florísticamente con la biota de Sudamérica, en términos de su historia geológica, estas islas estuvieron muy estrechamente vinculadas con África, siendo una vez parte del extremo sureste de este continente. Durante la temprana fragmentación del Gondwana, cuando aún Sudamérica formaba parte de este supercontinente, las islas Malvinas rotaron a través del Atlántico sur y se desplazaron desde su original posición en el sudeste de África hasta alcanzar, en el Cretácico temprano (130 Ma), la presente ubicación en la plataforma continental de Argentina (Marshall, 1994; Richards et al. 1996). No obstante, ninguno de los taxones analizados hasta el presente parece reflejar esta antigua afinidad geológica con África, mientras que las relaciones con taxones sudamericanos están fuertemente corroboradas por análisis filogenéticos y panbiogeográficos (McDowall 2005, Morrone & Posadas 2005). En el caso de *P. mohrioides*, los análisis filogenéticos precedentes muestran la estrecha relación con sus congéneres continentales (especialmente con *P. subintegerrimum* y *P. plicatum*). Dada la corta distancia que separa las Islas Malvinas del continente, su distribución podría explicarse por dispersión transoceánica de un ancestro o población ancestral continental. Sin embargo, tampoco pueden ser descartados eventos de dispersión por vía terrestre cuando el extremo sur de Sudamérica y las Islas Malvinas estaban conectados, debido a la reducción del nivel del mar que ocurrió en las glaciaciones del Pleistoceno (Morrone 2011).

En tanto, las Islas Georgias del Sur, se originaron en el Cretácico como uno de los fragmentos de la placa del istmo continental que se unió al sur de Sudamérica y la

península Antártica (Dalziel et al. 1975). La flora nativa está principalmente relacionada con la de las Islas Malvinas, Tierra del Fuego y Patagonia. Comprende ca. de 26 especies, de las cuales seis son helechos que también crecen en las Islas Malvinas y en los Bosques Subantárticos. Según Buckland & Hammond (1997) la hipótesis relacionada con el arribo de propágulos desde las Islas Malvinas por dispersión transoceánica (principalmente por aves y por el viento), permitiría explicar la presencia de la mayoría de los taxones que comparten con las Islas Malvinas, entre los cuales se encuentra *P. mohrioides*.

En relación a los *Polystichum* neotropicales (Clado II), McHenry & Barrington (2014) postularon que los especies exindusiadas de los Andes –clado Andino- constituyen un linaje que se dispersó desde México y alcanzó los Andes tropicales en el Mioceno medio, diversificándose posteriormente desde los Andes centrales hacia los del Norte. Los resultados evidencian que los *Polystichum* Andinos no están relacionados filogenéticamente con los Australes, por lo tanto, las diez especies de *Polystichum* que crecen en Argentina tienen dos orígenes evolutivos distintos; las diferencias morfológicas y citológicas entre ambos, constituyen un grupo más de evidencia a favor de esta propuesta.

Finalmente, las 7 especies definidas tradicionalmente para Chile y el sur de la Argentina (Marticorena et al. 1995, de la Sota et al. 1998) se recuperan a través de la hipótesis filogenética expuesta.

2. Biogeografía histórica del clado Austral

El análisis de reconstrucción de áreas ancestrales muestra que las áreas ancestrales más probables de los *Polystichum* Australes y de los de Australia, habrían sido con igual probabilidad Australia y Sudamérica austral.

Las especies Australes y las de Australasia (Australia y Nueva Zelanda) son filogenéticamente cercanas al clado del Este de Asia. Li et al. (2007) subrayaron estas relaciones filogenéticas y biogeográficas y propusieron que los *Polystichum* de Australasia se originaron de un ancestro de China en el Eoceno ($40,1 \pm 3,8$ Ma.). El siguiente evento propuesto por los autores, fue que los *Polystichum* de Nueva Zelanda divergieron de un

ancestro australiano hace $14.1 \pm 3,3$ Ma., estimaciones que concuerdan con las de Perrie et al. (2003a); estos últimos autores propusieron además la hipótesis de dispersión a larga distancia desde Australia a Nueva Zelanda, a través del mar de Tasmania.

Cuando los *Polystichum* de China migraron a Australasia (ca. de 40,1 Ma., Li et al. 2007), Australia y el sur de Sudamérica estaban conectados a través de la Antártida en lo que fuera el Gondwana; Nueva Zelanda ya se había separado tempranamente de Australia durante el Cretácico tardío (ca. 80 Ma) (Sanmartín & Ronquist 2004). La mayoría de los autores acuerdan que el Eoceno tardío (35 Ma., Veevers et al. 1991; McLoughlin 2001) fue el final de la conexión terrestre entre Sudamérica y Australia, por lo tanto, es posible suponer que en el lapso comprendido entre 40-35 Ma., este ancestro se expandió desde Australia al resto del territorio gondwánico. En concurrencia con el progresivo desmembramiento del Gondwana, la distribución del último ancestro común entre los *Polystichum* Australes y los de Australia comenzó a fragmentarse hace 35 Ma. Esta hipótesis de separación vicariante se soporta en el análisis de Dispersión-Vicarianza (SDIVA, vicarianza $P=1$). El extremo sur del continente sudamericano ha sido considerado tradicionalmente por tener una historia vicariante (Sanmartín & Ronquist 2004); los datos que aquí se aportan seguirían el mismo patrón encontrado para otras especies, tanto de plantas (Manos 1997, Swenson et al. 2001) como de animales (Cracraft 2001, Eizirik et al. 2001).

En general, las historias biogeográficas de los taxones del hemisferio sur son complejas y, en algunos casos, han combinado procesos de vicarianza antigua y eventos de dispersión relativamente recientes (Waters et al. 2000, Cooper et al. 2001, Mitchell et al. 2014). Además se han reportado otros casos de grupos post-gondwánicos, con solo eventos de dispersión a larga distancia (Baum et al. 1998, Waters et al. 2000, Buckley et al. 2002, Winkworth et al. 2002).

En el caso especial de los helechos homospóreos que pueden dispersarse cientos de kilómetros por las esporas pequeñas y livianas que se producen en gran número, tanto la dispersión a larga distancia como la vicarianza se han utilizado para explicar el patrón de

distribución de la mayoría de los géneros de helechos (Wolf et al. 2001), incluido *Polystichum* (McHenry & Barrington 2014, Barrington & Driscoll 2007, Le Péchon et al. 2016b).

Si bien la vicarianza es apoyada en los resultados de los análisis de Dispersión-Vicarianza, la dispersión a larga distancia no debería ser descartada. Datos moleculares y de fósiles proveen evidencias convincentes para la dispersión transoceánica en el establecimiento de distribuciones de plantas, entre ellas los helechos (McGlone et al. 2001, Brownsey 2001). Según Winkworth et al. (2002), tenemos un conocimiento limitado de los mecanismos que han transportado propágulos a través del sur del Pacífico, uno de ellos es la dispersión mediada por el viento del oeste ("west-wind drift"). Sin embargo, probablemente, estos mecanismos serían responsables solamente de una pequeña proporción de eventos de dispersión exitosos en el vasto sur del océano Pacífico. Para dirimir si fue vicarianza o dispersión a larga distancia, sería importante realizar estudios complementarios como la estimación de tiempos de divergencia y el modelado de las distribuciones potenciales pasadas de las especies Australes y las de Australasia.

Otro resultado interesante de esta tesis es que la diversificación de los taxones Australes ocurrió en el área geográfica que actualmente ocupan, esto estaría indicando que eventos geológicos y paleoclimáticos que tuvieron lugar a lo largo del terciario y hasta la actualidad (Crisci et al. 1991, Premoli 1997, Sársic et al. 2011, Fontana et al. 2012, Turchetto-Zolet et al. 2013), promovieron la especiación del género en esta parte del continente sudamericano. Futuros estudios podrán ayudar a vislumbrar esta historia.



CAPÍTULO IV. TAXONOMÍA Y DELIMITACIÓN DE LAS ESPECIES

INTRODUCCIÓN

Polystichum fue descrito por A. W. Roth en 1799, pero fue C. B. Presl (1836) quien primero circunscribe el género tal como actualmente es reconocido. Desde entonces, numerosas contribuciones se han realizado para esclarecer su diversidad taxonómica y sistemática (Maxon 1909, 1912, Allan 1961, Morton 1967, Taylor 1970, Wagner 1979, Smith 1981, Stolze 1981, Brownsey 1985, Barrington 1989, 1995, 2005, 2011, Andrews 1990, McCarthy & Orchard 1998, Brownsey & Smith-Dodsworth 2000, Perrie et al. 2000, Roux 2000, 2001, 2004, Mickel & Smith 2004, Kessler et al. 2005, Pellow et al. 2009, Morejón Hernández & Sánchez 2012, 2013). Estudios recientes, basados en datos moleculares, han permitido delimitar a *Polystichum* como un grupo monofilético (Little & Barrington 2003, Lu et al. 2005, 2007, Driscoll & Barrington 2007, Li et al. 2008). A nivel infragenérico, los primeros tratamientos para circunscribir secciones fueron los de Tagawa (1940) y Daigobo (1972) para las especies asiáticas. Recientemente, Zhang & Barrington (2013) realizaron la revisión sistemática del género para China, donde 239 especies se segregaron en 2 subgéneros y 23 secciones. Sin embargo, la clasificación infragenérica completa de *Polystichum* permanece aún sin resolverse.

Las especies Australes de *Polystichum* presentan problemas en su circunscripción debido a la elevada variabilidad morfológica y el escaso conocimiento existente sobre su biología. Este grupo ha sido controversial para los sistemáticos desde 1825-1850, período en el que los botánicos europeos describieron las primeras especies, basados en su mayoría en ejemplares colectados por expediciones marítimas a través de las costas y archipiélagos australes. Las primeras sinopsis de los *Polystichum* Australes fueron provistas por Rémy 1854 y Mettenius (1856, bajo el nombre de *Aspidium*) para Chile. Sin embargo, Hooker (1862), malinterpretó la diversidad taxonómica del grupo reconociendo una sola especie altamente variable, *Aspidium aculeatum* (L.) Swartz; bajo este taxón no sólo incorporó los *Polystichum* Australes, sino también a un importante set de especies del mundo. Este criterio continuó por más de 40 años, incluso con Christensen (1906). Sin embargo, Christ (1905) basándose en datos y ejemplares recogidos durante la expedición

al Polo Sur (1901-1903), dirigida por C. Skottsberg, reconoció cuatro especies Australes y las agrupó (junto con las colectadas en Nueva Zelanda) en dos secciones: Mohrioides y Aculeata. Posteriormente, Christensen (1910) analizando los mismos ejemplares de Skottsberg, reconoció cinco especies, una de ellas con dos variedades; desafortunadamente, varias de las determinaciones fueron erróneas pues este botánico no interpretó correctamente los ejemplares tipos. Los trabajos posteriores sobre el mismo grupo han sido enteramente florísticos (Rémy 1854, Fée 1869, 1873, Hicken 1906, 1907a,b, 1909, Christensen 1910, Hosseus 1915, Looser 1939, 1968, Diem 1943, 1958, Pichi-Sermolli & Bizarri 1978); los más recientes (Marticorena & Rodríguez Ríos 1995, de la Sota et al. 1998) han reconocido siete especies y dos variedades. Si bien estos taxones cuentan con una rica y compleja historia nomenclatural, con numerosos sinónimos y varios de los primeros nombres inadecuadamente tipificados, en las últimas décadas, sólo una revisión sobre la nomenclatura de algunas de las especies Australes fue realizada por Rodríguez Ríos (1987).

Los resultados citológicos, morfológicos, anatómicos y filogenéticos expuestos en los capítulos precedentes aportaron la información necesaria para: interpretar la identidad de los especímenes estudiados y de los materiales tipos, resolver problemas nomenclaturales y desarrollar el tratamiento taxonómico de los *Polystichum* Australes, que se presenta en este capítulo.

Considerando que el nivel taxonómico de especie provee el sistema básico de referencia para la diversidad biológica, en esta instancia, se estima pertinente esclarecer el concepto de especie seguido en este tratamiento. Aunque se han propuesto una amplia diversidad de conceptos de especie, es una situación desafortunada que los biólogos hayan fallado en establecer un acuerdo sobre el significado del término "especie". Según Baum (2009), hay dos principales ejes de variación en este concepto: la especie como taxón versus la especie como unidad funcional. La especie, como concepto de taxón, enfatiza las similitudes y diferencias entre las especies y entonces los conceptos fenético, morfológico, genealógico y la monofilia, son usados con similares criterios de

agrupamiento. Mientras que, si la respuesta es algo sobre su integridad funcional, o cohesión ecológica, entonces el concepto de especie es funcional y está relacionado con el concepto biológico, evolutivo, ecológico y de cohesión. Siendo este capítulo la síntesis taxonómica de lo investigado, creemos pertinente orientarnos al primer eje sugerido por Baum (2009). Desde este enfoque, la definición de especie propuesta por Nixon & Wheeler (1990), es la que expresa más adecuadamente el criterio que se ha adoptado: “especie es la menor muestra de poblaciones o linajes diferenciables por una única combinación de estados de caracteres de individuos comparables”. Por otro lado, dada las características inherentes al grupo estudiado (alopoliploides, presencia de híbridos y amplia variabilidad morfológica) se prefiere no usar clasificaciones infraespecíficas en este tratamiento taxonómico, pues no se han hallado caracteres consistentes para delimitar o mantener las variedades o subespecies.

Por lo expuesto, dos variedades [*Polystichum chilense* (H.Christ) Diels var. *dusenii* (C. Chr.) R.A. Rodr. y *Polystichum multifidum* (Mett.) T.Moore var. *pearcei* (Phil.) R.A. Rodr.], se sinonimizaron bajo sus respectivas especies (Morero et al. 2016), consecuentemente los *Polystichum* Australes comprenden actualmente 7 especies, cuya distribución geográfica se muestra en la Fig. 27.



Fig. 27. Área de distribución de los *Polystichum* Australes (en color anaranjado).

En correspondencia con lo planteado, los **objetivos** de este capítulo son:

1. Realizar una revisión taxonómica del grupo en estudio empleando ejemplares de herbario, material vivo y preservado y consulta de los ejemplares tipos;
2. delimitar las especies de los *Polystichum* Australes con base en los datos cromosómicos, morfológicos, anatómicos y moleculares presentados en los capítulos precedentes;
3. proponer las áreas de distribución geográfica para cada taxón.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Exploración de las poblaciones y recolección de los especímenes

Como se mencionara en el capítulo I, se realizaron dos viajes de colección al sur argentino, uno al sur de Chile y otro a la Isla Robinson Crusoe (Arch. Juan Fernández). En estos viajes se efectuaron observaciones *in situ* en las poblaciones naturales, registrándose las coordenadas del sitio y datos relacionados con el hábitat, aspecto y tamaño del esporófito. Se documentaron tales registros mediante fotografías que incluyeron detalles de las frondes, rizomas y estructuras reproductivas.

Se recolectaron ejemplares completos que fueron cultivados en invernáculo para los estudios citogenéticos. Además, pinnas de las frondes jóvenes se conservaron en sílica-gel, para los estudios moleculares y se fijaron rizomas y frondes en FAA (solución fijadora de formaldehído, alcohol y acético) para los estudios anatómicos. Los ejemplares herborizados fueron depositados en el herbario del Museo Botánico de Córdoba (CORD).

Asimismo, se visitaron varios herbarios de Argentina (BA, BCRU, LIL, LP, RIOC, SI), Chile (SGO) y Estados Unidos (VT). Los especímenes recolectados y también los recibidos en préstamo de otras instituciones (CONC, BA, LIL, MCNS, SI) se determinaron siguiendo los procedimientos clásicos de taxonomía. Los acrónimos de los herbarios se tomaron de Thiers (2013).

2. Análisis de la distribución geográfica de los taxones

El análisis de la distribución geográfica de cada especie está basado en los datos de colecciones de todos los especímenes estudiados, sumando un total de 400 ejemplares. Mediante el uso del programa Diva-Gis (Hijmans et al. 2004) se mapearon los sitios de ejemplares colectados en viajes de campo y especímenes herborizados. Estos últimos fueron registrados en visitas personales a herbarios de Argentina (BA, CORD, SI, LIL), Chile (SGO) y Estados Unidos (VT), de imágenes digitales provistas por los herbarios B, BM, E, F, GENT, GH, GOET, K, LE, M, MPU, NY, P, S, US, W, o de imágenes digitales disponibles en el portal JSTOR Global Plants (<http://plants.jstor.org>). Con base en los datos mapeados se provee el mapa general de distribución del grupo y los mapas de cada una de las especies de *Polystichum* Australes.

3. Resolución de problemas nomenclaturales

Para los estudios taxonómicos se localizaron y examinaron los materiales tipos, descripciones originales y sinonimia de cada uno de los taxones del grupo de *Polystichum* Australes y también de tres especies del grupo Andino que habitan en Argentina (*P. montevidense*, *P. pycnolepis* y *P. platyphyllum*). La revisión de los tipos se basó en el análisis de: especímenes depositados en BA, CONC, CORD, LIL, LP, SGO, SI, imágenes digitales provistas por B, BM, E, F, GENT, GH, GOET, K, LE, M, MPU, NY, P, S, US, W, o disponibles vía JSTOR (<http://plants.jstor.org>). La información sobre publicaciones botánicas, autores, fechas, colectores y sus herbarios fueron tomados de Stafleu & Cowan (1976-1988).

Al analizar el material tipo y las descripciones originales se advirtió la necesidad de realizar tipificaciones. La designación de un lectotipo, es decir, un espécimen del material original que se designa como tipo nomenclatural, se realiza cuando no se cumple el “principio de tipificación”, según el cual cada especie debe tener asociado un solo ejemplar tipo (McNeill et al. 2012). Así, se designaron lectotipos (en conformidad con el Art. 9.9, 9.10, 9.13, Código Internacional de Nomenclatura Botánica, McNeill et al. 2012)

para los siguientes 11 binomios: *Aspidium mohrioides* d'Urv., *A. montevidense f. imbricata* Hieron., *A. montevidense f. squamulosa* Hieron., *A. plicatum* Poepp. ex Kunze, *A. pycnolepis* (Kunze ex Klotzsch) Hieron., *Dicksonia andina* Phil., *Polystichum elegans* J.Rémy, *P. mohrioides f. latifolia* Hicken, *P. multifidum* var. *autranii* Hicken, *P. platyphyllum* var. *kurtziana* Hicken y *Polypodium polystichoides* Klotzsch). La designación de un lectotipo en los casos nombrados obedeció a: 1) no había sido indicado un holotipo en el momento de la publicación (*Aspidium plicatum*), 2) el material tipo es una colección que pertenece a más de un taxón (*Aspidium pycnolepis*.), 3) el material tipo lo integran dos o más especímenes de la misma colección (*Polypodium polystichoides*, *P. multifidum* var. *autranii*, *Polystichum elegans*), 4) el material tipo lo integran ejemplares de diferentes colecciones (*Aspidium mohrioides*, *A. montevidense f. imbricata*, *A. montevidense f. squamulosa*, *Dicksonia andina*, *P. mohrioides f. latifolia* y *P. platyphyllum* var. *kurtziana*). Además, fue necesario designar un neotipo para *Polystichum brongniartianum* J.Rémy, pues no se encontró el material tipo, que tampoco fue hallado por otros taxónomos (Christensen 1910, Looser 1968, Rodríguez Ríos 1987).

Cabe agregar que los especímenes seleccionados como lectotipos se indican más adelante en la descripción de cada taxón. Los lectotipos designados son los especímenes mejores preservados y más completos, se citan con el número de código de barra o con el número de herbario. Las localidades del lectotipo corresponden al sitio geográfico mencionado en el mismo ejemplar de herbario. Los sinónimos homotípicos o nomenclaturales (aquellos que tienen el mismo espécimen tipo y el mismo rango taxonómico) son precedidos por \equiv , y los heterotípicos o taxonómicos (que tienen diferentes tipos) por $=$. Gledhill (2002) fue consultado para la etimología de los epítetos específicos.

RESULTADOS

1. El género *Polystichum*

POLYSTICHUM Roth, A. W., Tent. Fl. Germ. 3(1): 31, 69-70. 1799, nom. cons. ESPECIE TIPO. *Polystichum lonchitis* (L.) Roth (= *Polypodium lonchitis* L.), lectotipo designado por Schott, Gen. Fil. tab. 9. 1834.

Etimología: *Polystichum*, “con numerosas filas”, en relación a las numerosas y regulares hileras de soros.

Plantas perennes, terrestres o saxícolas. **Rizomas** dictiostélicos, erectos a decumbentes, robustos, o cortamente rastreros y más delgados, rodeados por las bases de los pecíolos persistentes y con raíces adventicias largas y fibrosas. **Frondes** monomórficas, aglomeradas en el extremo de los rizomas; **pecíolos** con 3 (raro 2) o más hacecillos de conducción, surcados dorsalmente, escamosos principalmente en la base; **láminas** 1-4-pinnadas; **raquis** usualmente escamosos; **últimos segmentos** con la base asimétrica y mayor desarrollo del lado acroscópico, que usualmente presenta una aurícula diferenciada; márgenes con espínulas, o a veces lisos; indumento de la superficie abaxial representado por pequeñas escamas insertas especialmente sobre las venas; **venación** generalmente abierta, con las venas simples o furcadas. **Soros** redondeados naciendo sobre las venas o en sus extremos, exindusiados o cubiertos con un indusio redondeado y peltado. **Esporas** monoletes, elípticas a subcirculares en vista distal, castañas o negruzcas, perisporio reticulado, camerado o plegado, espinuloso, a menudo perforado. Número básico de cromosomas $x = 41$.

2. Clave para las especies de *Polystichum* Australes

1. Láminas 4-8 veces más largas que anchas, lineares o angostamente elípticas, ápice de la lámina y de las pinnas acuminado u obtuso; pinnas basales perpendiculares al raquis, generalmente menores de 3 cm de largo; soros cubriendo 1/2-1/4 de la porción superior de la lámina

2

1'. Láminas 2-4 veces más largas que anchas, lanceoladas o elíptico-lanceoladas, ápice de la lámina y de las pinnas largamente pinnatífido; pinnas basales divergentes y descendentes, mayores de 5 cm de largo; soros ocupando más de la mitad o toda la lámina

4

2(1). Frondes de (5-)8-20(-35) cm de largo; láminas 1-pinnadas a 1-pinnado-pinnatisectas, porción apical obtusa; pecíolos con 2-3 meristelas en la base; pinnas con ápice redondeado, las basales iguales en longitud a las pinnas medias; raquis cubierto por escamas lanceoladas, castaño-anaranjadas; base del pecíolo con escamas de 5-10 mm de largo, concoloras o algo oscurecidas en el centro, castaño anaranjadas; soros en la mitad superior o más del envés de la lámina; indusio con pelos glandulares

3

2'. Frondes de (20-)30-70(-80) cm de largo; láminas 2-pinnadas, porción apical acuminada; pecíolos con (4-)5(-6) meristelas en la base; pinnas con ápice acuminado, las basales reducidas a menos de la mitad de las pinnas medias; raquis con escasas escamas lanceoladas, amarillo pálido; base del pecíolo con escamas de 10-20 mm de largo, bicoloras, centro atropurpúreo y margen castaño-anaranjado; soros en el cuarto superior de la lámina; indusio sin pelos glandulares

5. *P. plicatum*

3(2). Pinnas medias de 5-15 mm de largo, ovado-deltoides, margen crenado en las pinnas apicales y medias y lobulado en las inferiores, lóbulos sin apículos; indusio con pelos glandulares en el margen

1. *P. andinum*

3'. Pinnas medias de 10-20 mm de largo, triangular-deltoides, margen pinnatisecto en la porción basal de la pinna, el resto lobulado, lóbulos con 1-3 apículos; indusio con pelos glandulares en toda la superficie y el margen

3. *P. mohrioides*

4(1'). Frondes esparcidas; láminas 2-pinnadas; pinnas algo distanciadas en el raquis, las pinnas medias y basales hasta con 6-10(-12) pares de pínulas; escamas del raquis concoloras

6. *P. subintegerrimum*

4'. Frondes en rosetas; láminas 2-pinnadas o más divididas; pinnas contiguas, las medias con (12-)13-20(-25) pares de pínulas; escamas del raquis concoloras o bicoloras

5

5(4'). Láminas 3-4-pinnadas, membranáceas; pínulas deltoides divididas en segmentos delgados, espatulados, margen sin espínulas

4. *P. multifidum*

5'. Láminas 2-3-pinnadas, cartáceas o papiráceas; pínulas deltoideo-lanceoladas, enteras, o divididas en segmentos anchos, redondeados, margen con escasas espínulas débiles

6

6(5'). Láminas papiráceas; pinnas basales reducidas respecto de las pinnas medias; escamas del raquis concoloras y bicoloras; soros en la mitad a $\frac{3}{4}$ parte superior de la lámina; meristelas de la base del pecíolo sin banda circumendodermal

2. *P. chilense*

6'. Láminas cartáceas; pinnas basales iguales o escasamente reducidas en longitud respecto de las pinnas medias; escamas del raquis concoloras; soros en toda la lámina; meristelas de la base del pecíolo con banda circumendodermal

7. *P. tetragonum*

1. *Polystichum andinum* Phil., Linnaea 29: 108.1858. Fig. 28.

TIPO:—Chile. [Prov. de Osorno]. “Ad radicem vulcani Osorno, Mar 1852, R. A. Philippi s. n.” (holotipo, SGO 85428!, isotipo, B 20 0146703!).

Etimología: *andinum*, “de los Andes”, se refiere al ambiente altoandino donde vive.

Rizomas erectos o rastreros, de 2-4 mm de diámetro, decumbentes, dando origen, con frecuencia a varias plantas; raíces muy desarrolladas de 15 cm o más de largo, escamas rizomáticas de 4-7 × 1-3 mm, lanceoladas, concoloras, castaño-anaranjadas, margen entero. **Frondes** aglomeradas, erectas, de 5-12(-20) × 0,8-15(-2) cm; **pecíolos** 1/3 de la longitud de la fronde, verde-amarillentos o castaño claro, oscurecidos y escamosos en la base, con frecuentes pelos glandulares, con leve canal dorsal; escamas peciolares anchamente-lanceoladas, de 5-10 × 2-3 mm, margen entero, concoloras, castaño-anaranjadas, algunas bicoloras con el centro castaño oscuro; **láminas** 5-8 veces más largas que anchas, linear-oblongas, pinnadas, de color verde claro, firmes y algo carnosas; **raquis** verde, escamas del raquis lanceoladas, de 1,5-4 × 1-2 mm, borde entero o con algunos dientecillos, concoloras, castaño-anaranjado pálido; **pinnas** (10)-20-(25) pares, de 5-18 mm de largo, apretadamente dispuestas en el raquis, ovado-deltoides, base asimétrica, lóbulo basal acroscópico conspicuo, las apicales y medias con margen crenado, las inferiores lobuladas, algo reducidas y más distanciadas, escamas lineares deciduas en la cara abaxial; **venas** libres. **Soros** circulares; **indusio** orbicular, margen levemente ondulado con pelos glandulares 1-celulares globosos, regularmente insertos todo alrededor. **Esporas** biconvexas en vista ecuatorial, elípticas en vista polar, de 43-50 × 38-44 μm, perisporio castaño oscuro, plegado.

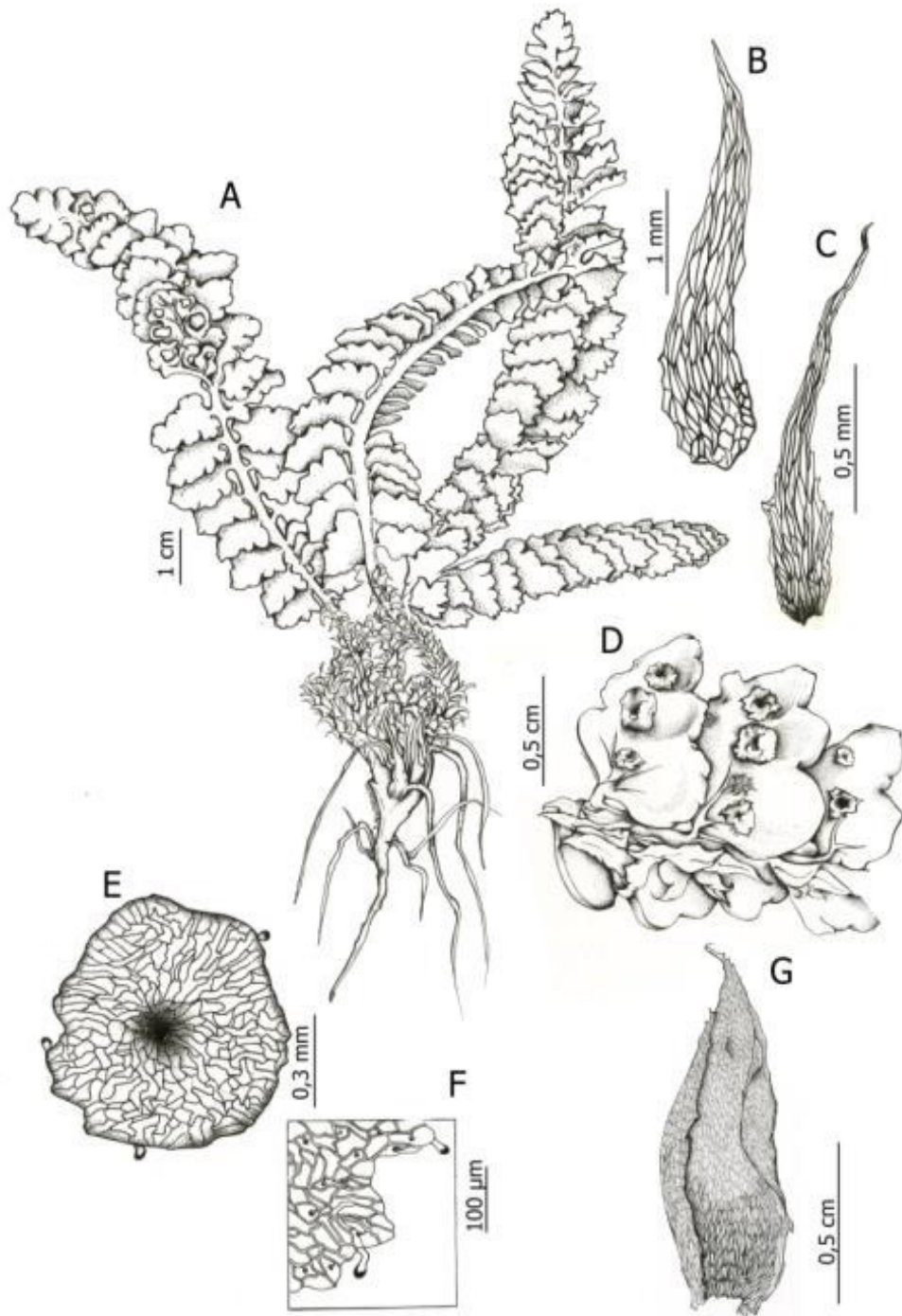


Fig. 28. *Polystichum andinum*. A. Aspecto de la planta. B. Escama del raquis. C. Escama del envés de las pinnas. D. Vista inferior de tres pinnas mostrando el indumento del raquis primario y la disposición de los soros. E. Indusio en vista superior. F. Detalle del margen del indusio. G. Escama de la base del pecíolo. Dibujó Silvana Montecchiesi (CORD).

Distribución geográfica y hábitat: Se encuentra en Chile y Argentina. En Chile habita desde la provincia de la Cordillera hasta la provincia Antártica Chilena desde el nivel del mar hasta los 4000 m s.n.m. En la Argentina crece en la región Andino-Patagónica desde Neuquén (37°42'S) hasta Tierra del Fuego (54-47°S); en el área continental generalmente vegeta por arriba del límite de la vegetación arbórea (desde los 1200 m s.n.m.) y en la Isla de Tierra del Fuego, vive a partir de los 500-600 m s.n.m. (Fig. 29).

Habita en las fisuras y oquedades de las rocas o coloniza el material rocoso disgregado. Forma poblaciones densas que pueden permanecer cubiertas por la nieve varios meses del año.

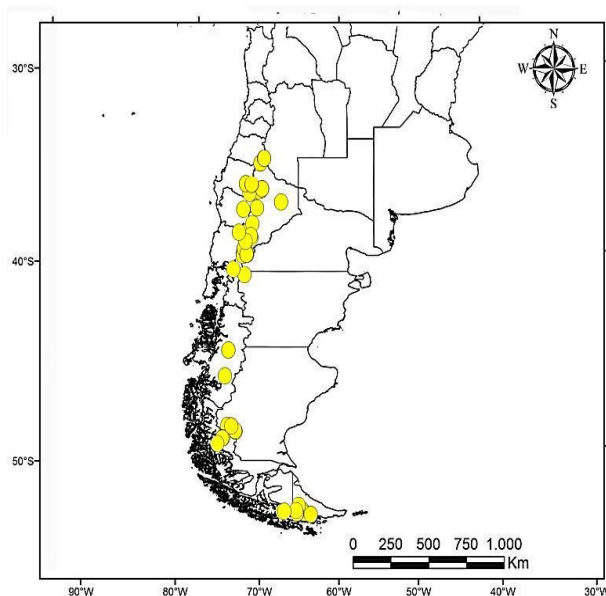


Fig. 29. Distribución geográfica de *Polystichum andinum*.

Nivel de ploidía: $n = 82$; $2n = 164$.

Variación morfológica: *P. andinum* exhibe escasa variabilidad morfológica; es una especie bien establecida que no presenta problemas en su identificación.

Antecedentes nomenclaturales: Esta especie, descrita por Rudolf A. Philippi en *Plantarum novarum Chilensium* (1858), fue erróneamente determinada por varios autores por más de 70 años (Hicken 1906, 1907 a,b, 1909, Hosseus 1915, Christensen 1910, Diem 1958, Looser 1939, 1945, 1968) como *Polystichum mohrioides* (d'Urv.) Presl., *P. mohrioides* var. *plicatum* (Poepp. ex Kunze) C. Chr. y *P. plicatum* (Poepp. ex kunze) Hicken (véase Apéndice 6). Posteriormente, Pichi Sermolli & Bizarri (1978) advirtieron que estos nombres no deben

ser aplicados a esta especie, rescatando de la sinonimia a *P. andinum* como el nombre correcto para este grupo de plantas.

Nivel de confianza en la delimitación de la especie: Su estatus como especie está avalado por la evidencia citológica, morfológica y molecular aquí presentada.

Especímenes examinados. ARGENTINA. Chubut. Dpto. Cushamen: Parque Nacional Lago Puelo, Nacientes del arroyo Aguja Sur, límite oeste del Parque Nacional Lago Puelo, *Vidoz 114*. "Zona periglacial con paisaje de prado altoandino" (LP). Parque Nacional Lago Puelo, Nacientes del arroyo Aguja Sur, *Morero 380* (CORD). **Neuquén.** Dpto. Aluminé: Al pie del Cerro Ventana, *Diem 679*, "mallín" (SI 031734). Dpto. Copahue: Copahue, *Pérez Moreu 37618* (BA). Copahue, subida al volcán, *Diem 3567* (LP). Dpto. Huiliches: Volcán Huanquihue, Lago Curruhue, sin colector (SI 69531). Parque Nacional Lanín, fondo de valle, *Eskuche 201* (SI). Volcán Huanquihue, Lago Curruhue, *Fiedler s.n.* (SI-60476). Dpto. Los Lagos: Parque Nacional Nahuel Huapi, Laguna Las Dos Hermanas, a orillas de La Superior, *Diem 3338* (LP). Cerro Dormilón, *Pérez Moreau 48901* (LP). Laguna las Monjas, en el valle alto del arroyo Vinagre, *Diem 922* (SI 022484). Dpto. Ñorquín: Copague. *Ezcurra 3200* (SI). Dpto no identificado: Cordón del Río Colorado, Cerro Curva, *Pérez Moreau 4897* (BA). Dpto. no identificado: upper reaches of Arroyo Chapelco Grande, up N. Fork to Lago La Kika, *Stuessy et al.* 10126 (LP; BA 56431). **Río Negro.** Dpto. Bariloche: Parque Nacional Nahuel Huapi, ascensión al Cerro Dormilón, *Montiel 10649* (BA 82791). Cerro López, *Fabris 2155* (LP 906835; CONC 126884). Cerro López, al oeste de S.C. de Bariloche, *Burkart 6175* (BA; SI 60528, LP 10126). Región del Lago Nahuel Huapi, Paso de las Nubes, *Cabrera 5910* (LP 33609; BA 10649). Valle Alto del Arroyo Goye, *Hosseus 163* (CORD). C° López, pasando 200 m el refugio, camino hacia "La Olla", *Morero 291* (CORD). **Santa Cruz.** Dpto. Lago Argentino: Patagonia, Lago Argentino, en las montañas arriba de Reharo, *Martínez 7* (SI). El Calafate, Los laberintos y camino a Calafate, Cerro Huyliche, Estancia Anita, *Guerrido et al.* 351 (SI 153546); Lago Dickson, *Donat 391* (SI). **Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur.** Dpto. Ushuaia: Isla de los Estados, Fiordo Parry, Bahía Cuevas, *Pisano y*

Looser s/n° (LP 3061; CONC 159023). Ushuaia, in montibus supra oppid?, *Skottsberg* 141 (SI). Ushuaia, Región Alpina, *Alboff* 865 (SI 60527). Ushuaia, Región alpina, *Alboff* s/n° (SI 24506). Ushuaia, *Capurro* 56431 (BA). Dpto. no identificado: Tierra del Fuego, *Gallardo* 562 (SI). Dpto: no identificado: en el camino entre Ushuaia y el Lago Fagnano, en bosque de *Nothofagus* aguas arriba y al este del Paso Garibaldi, *Pichi Sermolli* y *Bizzarri* 7499 (SI)

CHILE. VIII Región de Biobío. Prov. Bio-Bio: Reserva Nacional Ralco, Pelado Mallín, sector de vega, *Mihoc et al.* 4288 (CONC 159023). **IX Región de Araucanía. Prov. Cautín:** Volcán Llaima, *Gunckel* 14077, “en ranuras de rocas, en una grieta, no muy común” (CONC 96370). **Prov. Malleco:** Lonquimay, Paso Pino Hachado, *Ruthsatz* 7621 (CONC 135729). **X Región de los Lagos. Prov. Llanquihue:** Dpto. Llanquihue: Río Puelo, *Valenzuela* 36 (SGO 83416). Volcán Yates, *Werdermann* 662 (E182842). **Prov. de Osorno:** Parque Nacional Puyehue, Antillanca, *Gardner & Knees* 3997 “High lenga forest type and Altoandino vegetation. Volcanic ash. Fronds to 10 cm. plant only found in lava scree” (SGO 148106). Osorno. Cráter viejo del Volcán Antillanca, *Wagenknecht* 595 “Oquedades sombrías de la lava, fondo del cráter” (E 182841). Volcán de Osorno, *Krause* s/n° (B 200146704). **Prov. Palena:** Hualaihue, Volcán Hornopiren, *Godoy* 121 (CONC). **XI Región de Aysén. Prov. General Carrera:** Valle Estero Cofré, *Vogel* 565 (CONC 135538). **XI Región. Prov. Capitán Prat. Río Baker,** sector El Saltón, *Teneb* 680 “En la montaña sobre el límite arbóreo” (CONC 169229). **XII Región de Magallanes y de la Antártica, Prov. Última Esperanza:** Senos de Catherine, *Kalin Arroyo* 92-406 (CONC 128537). Parque Nacional Torres del Paine, Torres del Paine, Lago Dickson, *Donat* 391 (SI). Puerto Williams, Navarino. *Godley* 894c “Above forest, on land” (SGO 83417). Mainland opposite Puerto Eden. Wellington, *Godley* 7476 (BM 36370).

2. *Polystichum chilense* (H.Christ) Diels, Nat. Pflanzenfam. [Engler & Prantl] 1: 192. 1899. Fig. 30.

Basónimo: *Aspidium aculeatum* (L.) Sw. var. *chilense* H.Christ, Ber. Schweiz. Bot. Ges. 3: 39. 1893. TIPO. —“CHILE. Valdivia, 1868, *C. Rabenhorst s.n.*” (holotipo, P 00635495!).

Etimología: chilensis: “de Chile, chileno”, en relación al país donde se colectó el ejemplar de referencia para describir esta especie.

=*Polystichum multifidum* (Mett.) T. Moore var. *dusenii* C.Chr., Ark. Bot 10 (2): 19. 1910. **Syn. nov.** (Morero et al. 2016). TIPO:—[Chile] “Patagonia occidentalis, illin valle fluminis Aysén, 15 Ene 1897, *P. Dusén 489*” (holotipo, S 05-10906!).

≡*Polystichum chilense* (H.Christ) Diels var. *dusenii* (C. Chr.) R.A. Rodr., Gayana, Bot. 44 (1-4): 48. 1987.

≡ *Polystichum bridgesii* Schott, Gen. Fil. Fasc. II: 32.1834. Es un *nomen nudum*, publicado sin descripción y sin referencia a ninguna otra diagnosis.

Rizomas robustos, erectos o decumbentes, de 1-4 cm de diámetro, formando un pequeño tronco junto con las bases de los pecíolos en las plantas más grandes; escamas rizomáticas lanceoladas, estrechas, de 10-20 × 1-2 mm, margen entero o paucidentado, concoloras, castaño rojizas. **Frondes** de 30-140 × 8-35 cm, frecuentemente reunidas en rosetas de 4-30 hojas arqueadas; **pecíolos** 1/4 a 1/5 la longitud de la fronde, dorsalmente acanalados, verde oliváceos, base totalmente cubierta de escamas, éstas de 13-25 × 4-6 mm, anchamente lanceoladas, margen entero o paucidentado, bicoloras, centro castaño oscuro o negro y bordes anaranjado pálido; **láminas** 3-4 veces más largas que anchas, lanceoladas, 2-3-pinnadas, verde brillantes en la haz, ápice largamente pinnatífido; **raquis** verdes, el primario con el envés amarronado, surcados dorsalmente, escamas del raquis de 6-12 × 1-2 mm, de dos tipos: unas lanceoladas, concoloras, castaño-anaranjadas y otras, hacia la porción inferior, ovado-lanceoladas, bicoloras, con el centro negruzco y los bordes anaranjado pálido, dentadas en la base; **pinnas** 20-45 pares, de (6-)8-9(-12) cm de largo, unidas perpendicularmente al raquis, con el extremo pinnatífido, las basales divergentes y descendentes, reducidas en longitud respecto de las pinnas medias; **pínnulas** 12-20 pares,

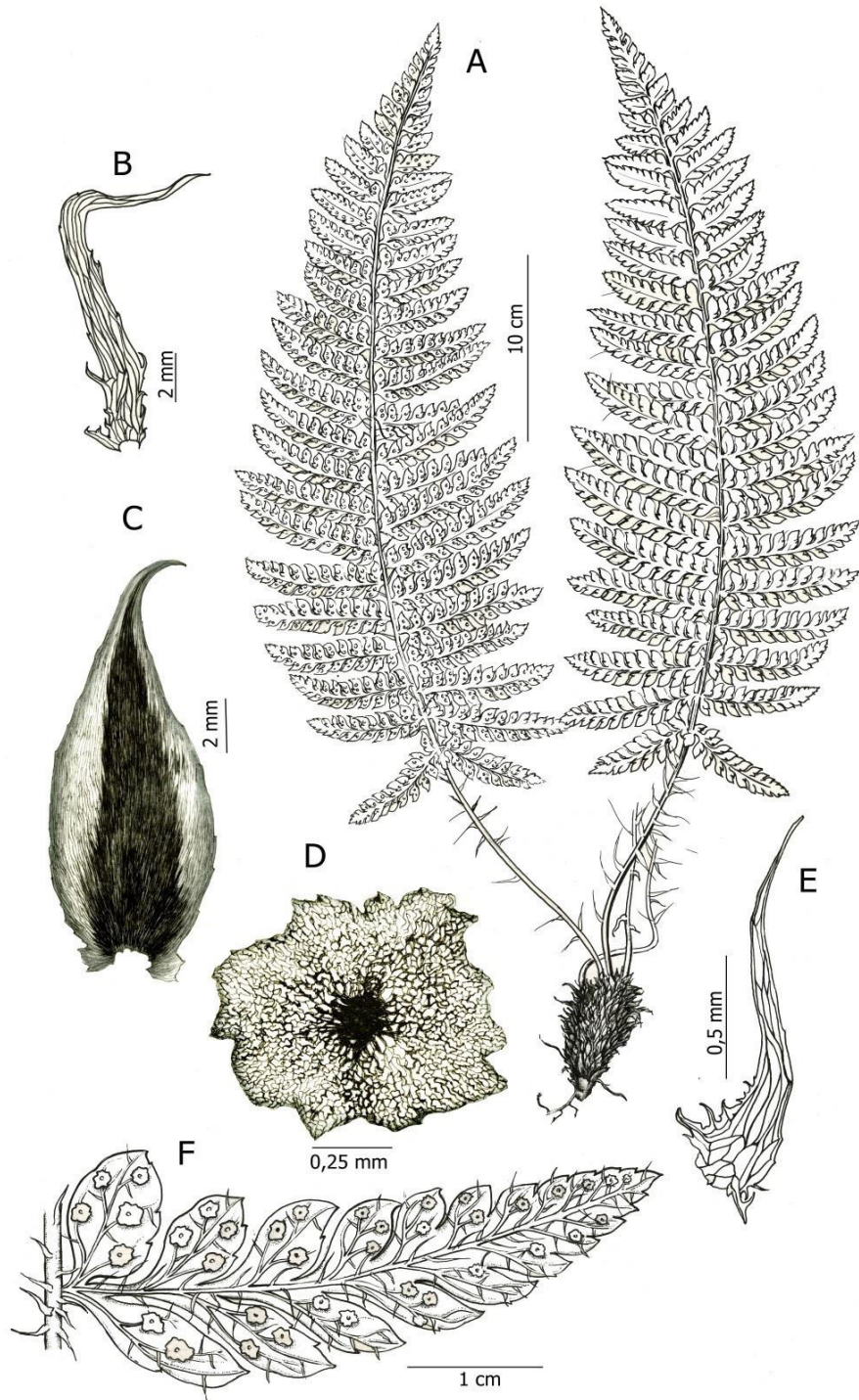


Fig. 30. *Polystichum chilense*. A. Aspecto de la planta. B. Escama del envés de las pínulas. C. Escama de la porción basal del pecíolo. D. Indusio en vista superior. E. Escama del raquis. F. Pinna fértil del sector apical de la lámina. Dibujó Silvana Montecchiesi (CORD).

deltoido-lanceoladas, cartáceas, aurícula poco desarrollada, margen aserrado o dentado, con espínulas débiles en el ápice y la aurícula, la pínula basal acroscópica de cada pinna, con mayor desarrollo que las restantes y más dividida, envés con escamas filiformes, claras, venas libres. **Soros** cubriendo la mitad a $\frac{3}{4}$ parte de la lámina, indusio orbicular con el margen inciso, sin glándulas. **Esporas** biconvexas en vista ecuatorial, elípticas en vista polar, de $32-45 \times 20-32 \mu\text{m}$, perisporio amarillo claro, no plegado.

Distribución geográfica y hábitat. En Argentina, se encuentra en la región Andino-Patagónica desde el sur de Neuquén ($40^{\circ}40'S$) hasta Tierra del Fuego e Islas de los Estados ($54^{\circ}50'S$), desde el nivel del mar hasta los 1600 m s.n.m. También crece en Chile desde la provincia de Ñuble (Región VIII, del Biobío, $36^{\circ}40'S$) hasta la provincia de Tierra del Fuego (Región XII, de Magallanes, $55^{\circ}10'S$) (Fig. 31). Habita en el sotobosque, asociado a sitios muy húmedos, en las cercanías de cascadas, márgenes de ríos y lagunas; preferentemente vegeta en lugares protegidos por aleros y grietas de las rocas. Suele formar poblaciones en bosques cercanos a las costas marinas australes de Argentina y Chile.

Nivel de ploidía: $n= 82$; $2n= 164$.

Variación morfológica: Es un taxón morfológicamente heterogéneo en cuanto a la disección de la lámina y el tamaño de los individuos, lo que ha originado diversos problemas en su taxonomía. Los ejemplares con láminas más divididas son frecuentemente confundidos con *P. multifidum*.

Polystichum chilense se diferencia de *P. multifidum* por la presencia en el primero de pínulas enteras o con divisiones

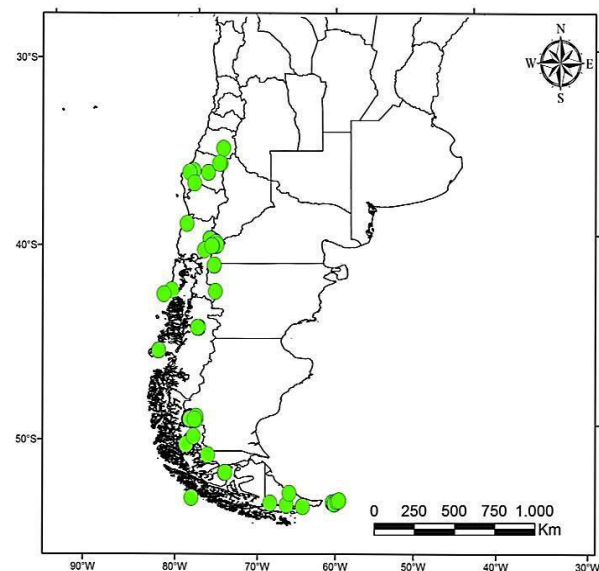


Fig.31. Distribución geográfica de *Polystichum chilense*.

espínula breve, en tanto *P. multifidum* presenta pínulas divididas en segmentos espatulados, sin espínulas en el margen.

Antecedentes nomenclaturales: Konrad H. Christ (1893) abordando el controvertido complejo de *Polystichum aculeatum* de Europa, norte de África y otras partes del mundo, crea la var. *chilense* para los helechos recolectados en Chile que se asemejan morfológicamente a este complejo. Posteriormente, Diels (1899) eleva su rango a la categoría de especie.

La var. *dusenii*, fue descrita inicialmente para *P. multifidum* por Christensen (1910), teniendo en consideración la división de la lámina (2-pinnada-pinnatífida) y la forma y margen de las pínulas (pínulas obovadas con márgenes levemente dentados). Más tarde, Looser (1968) sugirió que este set de plantas debería ser considerado como una variedad de *P. chilense*. Rodríguez Ríos (1987) acordando con este criterio formalizó el reconocimiento de la variedad: *P. chilense* var. *dusenii* (C.Chr.) R. Rodr. En este trabajo se considera que la variedad *dusenii* es una entidad cuyos caracteres se encuentran dentro del rango de variabilidad de *P. chilense* y por ello se la incluye en su sinonimia.

Nivel de confianza en la delimitación de la especie: El estatus taxonómico de esta especie está avalado por la información molecular y morfológica. Del total de especímenes de herbario examinados, sólo un grupo reducido de ellos, que habitan el extremo sur de Chile y Argentina y el área insular adyacente, caracterizados por sus frondes profusamente escamosas, merecerían estudios citogenéticos y moleculares complementarios, para corroborar si se trata de variaciones fenotípicas locales propias de esta especie.

Especímenes examinados. ARGENTINA.Chubut. Dpto. Cushamen: Parque Nacional Lago Puelo, Arroyo Los Laureles, entre Gendarmería y Los Hitos, *Vidoz* 140 (LP). Dpto. no identificado: Camino a Corcovado, *Dimitri* 9262 (BA). **Neuquén.** Dpto. Los Lagos: Cascada Santa Ana, *Morero* 308 (CORD, SI 031221).Dpto. Los Lagos: Cascada Santa Ana, *Morero*307

(CORD). Villa La Angostura. Sendero a Cascada Inacayal. *Moreno* (302). Lago Nahuel Huapi, Quetrichue, *Diem s/n°* (LIL 430840). Dpto. no identificado: Parque Nacional Nahuel Huapi, *Pérez Moreau s/n°* (BA 50132). **Río Negro**. Dpto. Bariloche: Laguna Frías, *Burkart* 6284 (SI 60496). Parque Nacional Nahuel Huapi, Isla Victoria, Punta Norte, *Boelcke & Correa* 6301 (SI). **Santa Cruz**. Dpto. Lago Argentino: Lago Argentino, *Suárez* 413 (LP). Parque Nacional Los Glaciares, *Pérez-Moreau s/n°* (BA 69748). Lago Argentino, Puerto Ferrari, *Hicken & Hauman* 9 (SI). Lago Argentino, ventisquero Moreno, *Caraventa* 4224 (CONC 87629). **Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur**. Dpto. Ushuaia: Islas de Año Nuevo, Isla observatorio, *Castellanos* 141 (BA). Isla de Los Estados, Bahía Libertad, *Dudley et al.* 1202 (LP). Isla Observatorio, al norte de la Isla de los Estados, *Skottsberg* 279 (BA). Tierra del Fuego. Bahía Sloggett, *Goodall* 696 (BA, SI). Tierra del Fuego, Harberton, *Goodall* 379 (LP). Forest behind La Laguna, 5 km east of Estancia Policarpo, near Bahía Thetis, *Dudley et al.* 2262 “Large plants growing in one area of forest, not comon elsewhere” (SI 60490). Isla de los Estados Bahía Alexander, muy abundante, *Matteri s/n* (BA 67612). Isla de los Estados. Primera Bahía, *Dudley et al.* 1103 (SI 153711). Isla de los Estados. Bahía Franklin, Caleta Le Croix, Punta Tello, *Biganzoli* 708 (SI 160361). Isla de los Estados. Puerto Parry, *Dudley et al.* 1746 (SI 154612). Isla de los Estados. Islas de Año Nuevo, *Dudley et al.* 513a (SI 154560).

CHILE. VIII Región del Bio-Bio. Prov. Concepción: camino a Hualqui. La Leonera, *Junge s/n°* (CONC 6667). Concepción, *Espinar* 84 (SGO 83485). **Provincia de Ñuble:** Camino al Yungai. Cerca Mar a tierra, *Looser* 16 H (SI 24502). **IX Región La Araucanía. Provincia de Malleco:** Angol. Parque Nacional Conterno, *de la Sota* 6005 “en bosque alto” (LP). **X Región de Los Lagos. Provincia Llanquihue:** Comuna de Puerto Varas, *Hicken* 72 (SI 24502), Parque Nacional Vicente Pérez Rosales. Lago Todos Los Santos, Cayutue, 322 m, *Wolffbuigel* 74 (SI 60493). **Provincia de Chiloé:** Chile austral, Isla Huafo [Guafo], cerca del faro, *Skottsberg* 256 (SI). **XI Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo. Provincia de Aysén:** Puerto Aysén, cerca del río, *Looser* 5069 (CONC 134831). General Carrera. Parte alta del río Ibáñez, acercándose a la zona de nacimiento. (30-40°), *Solís s/n°* “Bosque denso, tipo forestal lenga puro. Sin regeneración de lenga y con poco sotobosque por los efectos de la última erupción del Volcán Hudson. En zona de mesetas con

pendientes moderadas a fuertes" (SGO 151475). Puerto Aysén, camino a Chacabuco, *Codoceo s/n°* (SGO 95689). Aysén, camino Coyhaique-Aysén, Pte. El Moro, *Barrera E.38* (SGO 100245). **XII Región de Magallanes y de la Antártica Chilena. Prov. Magallanes:** Perales, ca. 200 m, *Donat 10857* (BA). Skyring, Isla Escarpada, *Skottsberg 276/278* (BA). Magallanes, Seno Última Esperanza, Puerto Toro, Ventisquero Balmaceda, Morrena frontal, *Transecta Botánica de Patagonia Austral Flora de Chile 191* (CONC 50845). Seno Última Esperanza, Puerto Toro, Ventisquero Balmaceda, Morrena Frontal, *Transecta Botánica de Patagonia Austral Flora de Chile,1846* (CONC 50845). Magallanes, *Perales s/n°*(SGO 10857). **XII Región. Provincia Última Esperanza:** Canal de las Montañas, en sitios claros del bosque costero, *Pisano E. 6162, "Escaso"* (CONC 104357). Río Santa María a 60 km Camino sur 441 m, *Pisano & Looser 3530* (CONC 45071). Comuna Punta Arenas, Isla Noir, *Venegas & Dollenz s/n°* (CONC 139735).

3. *Polystichum mohrioides* (d'Urv.) C.Presl, Tent. Pter.: 83. 1836. Fig. 32

Basónimo: *Aspidium mohrioides* d'Urv., Flore des Iles Malouines: 26. 1825. TIPO:— Argentina. [Islas Malvinas] "I. Soledad", sin fecha, *M. J. Dumont-D'Urville 92*" (lectotipo, P 00636426!, designado por R. Morero et al., *PhytoKeys* 65: 93. 2016).

Etimología: *mohrioides*: del griego, en alusión al botánico alemán Daniel Matthias Heinrich Mohr (1780-1808).

≡ *Nephrodium mohrioides* (d'Urv.) Desv., *Mém. Soc. Linn. Paris* 6: 261. 1827.

≡ *Dryopteris mohrioides* (d'Urv.) Kuntze, *Revis. Gen. Pl.* 2: 813. 1891.

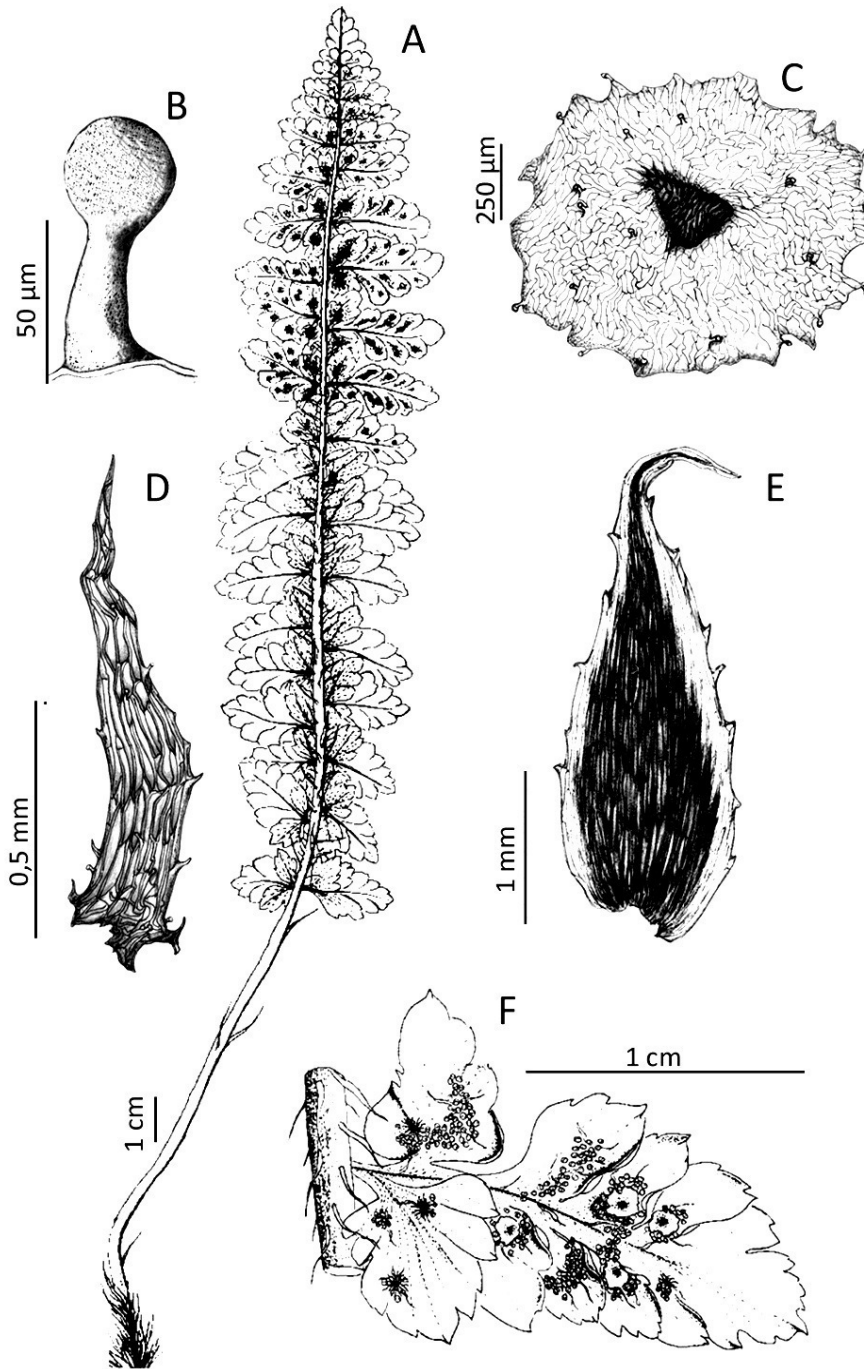


Fig. 32. *Polystichum mohrioides*. A. Fronde, vista de la cara abaxial. B. Pelo glandular del indusio. C. Indusio vista superior, con pelos en la superficie y el margen. D. Escama del raquis. E. Escama del pecíolo. F. Envés de una pinna mostrando los soros. A, F. Tomado de: de la Sota et al. (1998). B-E, dibujó Silvana Montecchiesi (CORD).

Rizomas rastreros de 3-4 mm diámetro, escamas rizomáticas lineares, castaño claras. **Fronde**s aglomeradas, numerosas, erectas, de (10-)15-26(-35) × 1,5-5 cm; **pecíolo** 1/2 a 1/3 la longitud de la fronde, escamas del pecíolo lanceoladas, de 6-15 × 2-5 mm, margen entero o con algunos dientes en la base, concoloras, anaranjado-ocráceas o, si bicoloras, con transición gradual al castaño oscuro en el centro, las jóvenes con pelos glandulares en la superficie; **láminas** lineares, 1-pinnadas, alrededor de 8 veces más largas que anchas, verde claro, ápice breve, acuminado; **raquis**, cara inferior escamosa, escamas lanceoladas, de 4-7 × 0,7-1 mm, margen entero, concoloras, anaranjado pálido; **pinnas** 1 ½ más largas que anchas, imbricadas, de 1-2 cm de largo, las basales contiguas y algo menores en longitud que las medias, ápice obtuso y apiculado, con algunas escamas filiformes en el envés, 1-2-pares de segmentos basales diferenciados, el resto del margen pinnatifido. **Soros** cubriendo hasta la mitad de la lámina, indusio redondeado, borde lobado, superficie y margen con pelos glandulares 1-celulares.

Distribución geográfica y hábitat. Especie endémica de las Islas Malvinas y Georgias del Sur. Forma poblaciones densas en los acantilados entre las grietas de afloramientos rocosos y en suelos pedregosos, más raro entre la vegetación arbustiva. En las Islas Malvinas se la encuentra desde el nivel del mar hasta los 600 m s.n.m. (más común en las tierras altas), y en las Georgias del Sur hasta los 400 m s.n.m. (Fig. 33).

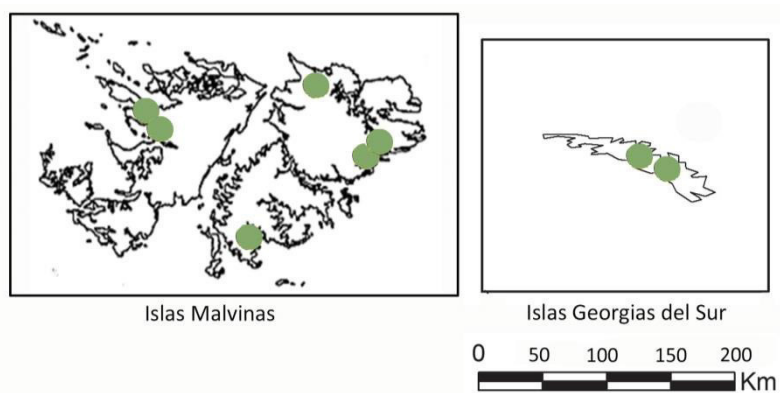


Fig. 33. Distribución geográfica de *P. mohrioides*.

Nivel de ploidía: sin datos.

Variación morfológica: Las poblaciones de esta especie insular microendémica exhiben escasa variación morfológica. Muy similar morfológicamente a otras especies de *Polystichum* que habitan en las rigurosas condiciones climáticas de las regiones de alta montaña, como *P. andinum* de la región altoandina patagónica, *P. cystostegia* de Nueva Zelanda, *P. lemmonii* y *P. scopulinum* de Norteamérica. Probablemente se trate de casos de convergencia evolutiva.

Antecedentes nomenclaturales: Este taxón fue originalmente descrito por J.S.C. Dumont d'Urville en el libro "Flore des Iles Malouines" (1825), bajo el género *Aspidium*. Posteriormente C. Presl (1836) lo transfiere al género *Polystichum*. Bory de Saint-Vincent, a quien d'Urville adjudica la identificación de los especímenes, lo describe tres años después (en Duperrey 1828), pero el nombre y la autoridad de *d'Urv.* tiene prioridad (Código Internacional de Nomenclatura, Art. 11, McNeill et al. 2012).

Las descripciones de ambos autores se basaron en ejemplares colectados durante la circunnavegación de la corveta "Le Coquille" (1822-1825), comandada por el Capitán L. Duperrey y de quien Dumont d'Urville fue el segundo oficial. Probablemente Dumont d'Urville describió a *A. mohrioides* basándose en tres especímenes depositados en el herbario de París (P00636426, P00636427 y P00636428), no designando un tipo en particular. En este trabajo se selecciona como lectotipo al ejemplar P00636426, por ser el único con la localidad "I. Soledad" indicada en la cartulina, lugar citado por Dumont d'Urville en el protólogo como el sitio de colección de estas plantas. Además, es el espécimen más completo, consistiendo en una planta fértil y dos frondes adicionales.

La similitud morfológica de este taxón con *P. plicatum* y *P. andinum*, motivó a Looser (1968) a incluirlos en un grupo informal que denominó "Grupo Mohrioides". Precisamente, la relativa homogeneidad morfológica del grupo, además de la sucesiva malinterpretación de los tipos y/o su desconocimiento, llevó a varios taxónomos a confundir la circunscripción de las tres especies. Así, por ejemplo, Christ (1905) incluyó las colecciones de *P. mohrioides* dentro de *P. andinum* y, bajo el nombre *P. mohrioides*, incluyó ejemplares de *P. plicatum* y otros especímenes de *Polystichum* (probablemente *P. orbiculatum*) de

Perú y Ecuador. También Christensen (1910), malinterpretando los tipos nomenclaturales, sinonimizó *P. plicatum* y *P. andinum* bajo *P. mohrioides*, reuniendo así bajo este nombre a las tres entidades. Para más detalle de la identidad nomenclatural asignada históricamente a *P. mohrioides* véase el Apéndice 6.

Además, la semejanza de *Polystichum mohrioides* a *P. lemmonii* (Norteamérica) y *P. scopulinum* (Canadá y Norteamérica) motivaron a Fernald (1924) a considerar erróneamente estas especies como variedades de *P. mohrioides*.

Nivel de confianza en la delimitación de la especie: Se trata de una especie bien establecida, los estudios moleculares y morfológicos aquí presentados avalan su estatus. Sería particularmente interesante realizar estudios citológicos (no efectuados en esta tesis por la falta de material vivo) que servirían para conocer los datos cromosómicos e inferir acerca del modelo de especiación de este taxón.

Especímenes examinados. ARGENTINA. Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur. Dpto. Islas del Atlántico Sur: Islas Malvinas, M.J. Crooked, *Skottsberg 57* (BM). Islas Malvinas, *Hooker s/n* (E00182831). Isla Gran Malvina, Ensenada Roy, *Valletin 2* (BM). Isla Soledad, Monte Destartalado [Mt. Tumbledown], al oeste de Puerto Argentino, *Moore 509* (LP). Isla Soledad, Cerro Alberdi [Mt. Osborne], *Lewis 495* (K00064909). Isla Soledad, *Darwin s.n.* (E00348207). Islas Georgias del Sur, Valle Olsen, Bahía Stromness, *Greene s.n.* (SI). Cara este 343 m s.n.m., *Greene&Philcox 3060* (SI). Caleta Capitán Vago [Grytviken], *Heilbronn 548* (VT). Bahía Guardia Nacional [Cumberland Bay], *Bonner 151* (BM). Detrás estación ballenera, *Walton SG-20* (VT). Bore Valley, Bahía Cumberland, *Sladen JB24/1* (BM). Islas Georgias del Sur, *Greene&Philcox 134* (SI).

4. *Polystichum multifidum* (Mett.) T. Moore, Index Fil. (T. Moore): 84. 1857. Fig. 34.

Basónimo: *Aspidium multifidum* Mett., Fil. Lechl. 1: 20. 1856. TIPO:— Chile. [Región de los Ríos]. "Sichahue, Cordillera de Rancho, Dic. s.d., W. Lechler & R. F. Hohenacker 3060" [lectotipo, P 00636318], designado por R. R. Rodríguez, Gayana Bot. 44: 51, 1987,

(lectotipificación inadvertida), isolectotipos, E 00182843!, GOET 009078!, K 000590470!, K 000590471!, MPU 015532!, S -R-427!, US 00067144! fragmento, W 0003928!].

Etimología: multifidum: del griego “con múltiples divisiones”, alude a las frondes con las láminas tri- a cuatripinnadas.

= *Polystichum pearcei* Phil., *Linnaea* 33: 305. 1865. TIPO:—[Chile. Valdivia]”Base de la Cordillera de Ranco”, s.f., *R. Pearce* s.n. (holotipo, SGO 000000478!).

≡ *Aspidium pearcei* (Phil.) F. Phil., *Cat. Pl. Vasc. Chil.*: 341. 1881.

≡ *Polystichum multifidum* (Mett.) T.Moore var. *pearcei* (Phil.) R.A. Rodr., *Gayana Bot.* 44: 51. 1987

= *Dicksonia andina* Phil., *Anales Univ. Chile* 94: 359. 1896. TIPO:—[Chile. Valdivia]. “Cuesta de Lipela, Cord. de Ranco”, Ene 1887, *O. Philippi* s.n. (lectotipo, SGO 000000511!, designado por R. Morero *et al.* 2016, *PhytoKeys* 65: 94. 2016 [segunda lectotipificación después de Rodríguez Ríos, *Gayana Bot.* 44: 51, 1987]; isolectotipo, SGO 000000512!).

= *Polystichum multifidum* (Mett.) T.Moore var. *autranii* Hicken, *Anales Soc. Ci. Argent.* 62: 172. 1906. TIPO:—[Argentina] “Chubut. Laguna Blanca, *J. Koslowsky* n° 240” (lectotipo SI 000112!, designado por Morero *et al.* 2016, *PhytoKeys* 65: 97. 2016 ; isolectotipos, SI 000113!).

Rizomas erectos, robustos, formando un pequeño tronco junto con las bases de los pecíolos persistentes en los individuos grandes, escamas rizomáticas estrechamente lanceoladas, de 10-15 × 3-6 mm, borde entero a paucidentado, castañas. **Frondes** de 25-120 × 10-30 cm, dispuestas en rosetas en los individuos grandes; **pecíolos** de 1/3 la longitud de la fronde, verde-amarillentos, cubierto por escamas anchamente lanceoladas, de 14-20 × 5-8 mm, bicoloras, bordes castaño anaranjado pálido y centro castaño oscuro, margen entero a paucidentado; **láminas** 3-4 veces más largas que anchas, elípticas anchas,

3-4-pinnadas, membranáceas, verde claro, ápice pinnatífido; **raquis** adaxialmente surcados al igual que el pecíolo, densamente cubiertos de escamas triangulares, angostas, de 7-15 × 0,7-1,5 mm, margen paucidentado, concoloras, ámbar y también escamas bicoloras con transición gradual del castaño-anaranjado claro en los márgenes, al castaño oscuro en el centro; **pinnas** 28-39 (40) pares, 4 veces más largas que anchas, de 8-16 cm de largo, ápice pinnatífido, perpendiculares al raquis, las basales descendentes y algo reducidas con respecto a las medias; **pínnulas** 12-23 pares, deltoides, el par basal más desarrollado y dividido, **últimos segmentos** espatulados, con el margen lobulado o emarginado, los basales de cada pínnula pinnatisectos, margen sin espínulas. **Soros** cubriendo más de la mitad de la lámina, indusio redondeado con el margen inciso, a veces provisto de prolongaciones piliformes. *Esporas* de 30-38 μm de largo, en vista distal.

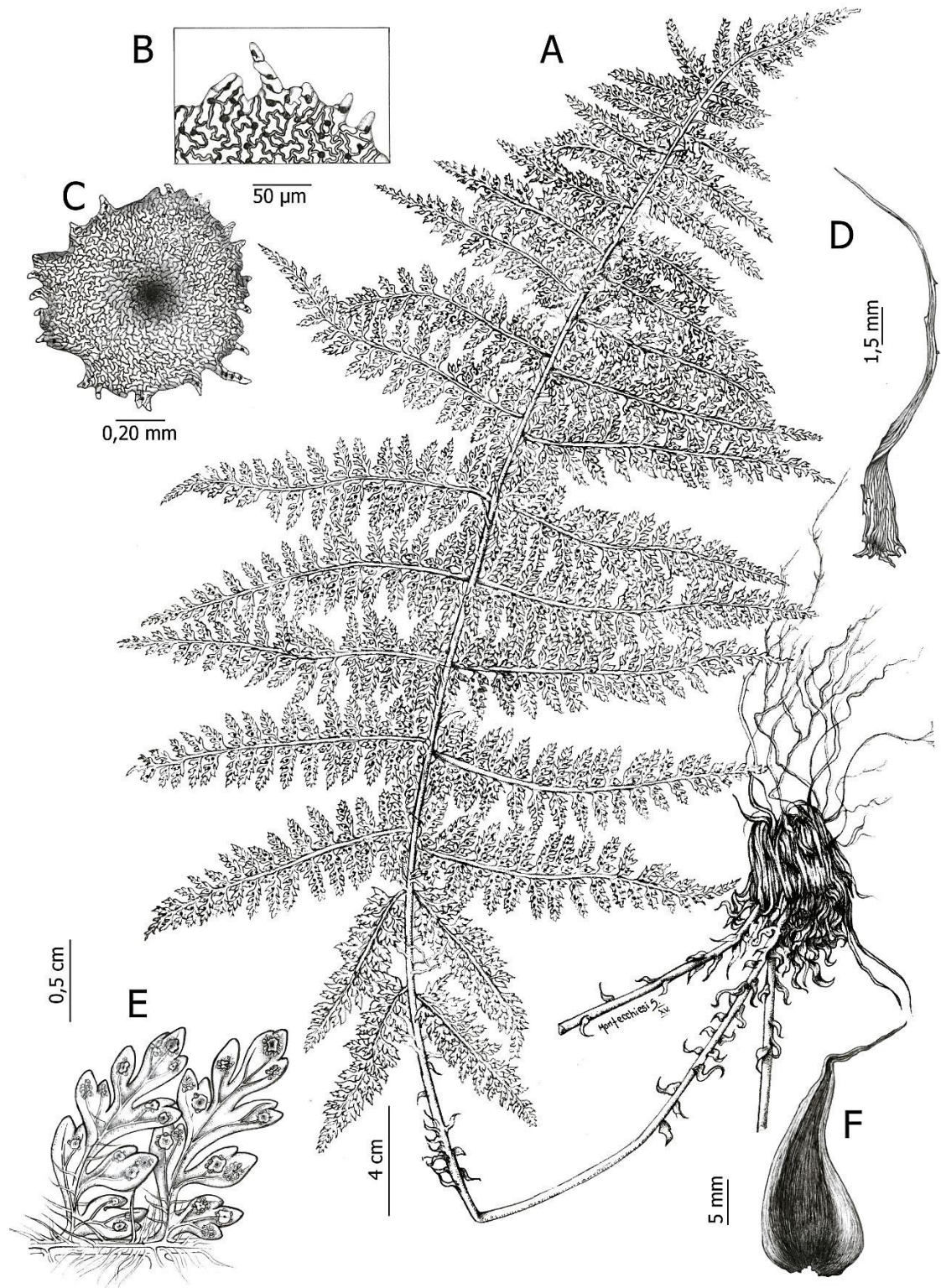


Fig. 34. *Polystichum multifidum*. A. Aspecto de la planta. B. Detalle del margen del indusio. C. Indusio en vista superior. D. Escama del raquis. E. Vista inferior de dos pínulas con soros. F. Escama del pecíolo. Dibujó Silvana Montecchiesi (CORD).

Distribución geográfica y hábitat. Habita en los bosques Subantárticos. En Chile, desde la provincia de Osorno (X Región Los Lagos, 41°29'S) hasta la provincia Última Esperanza (XII Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, 53°57'S); en la Argentina desde Neuquén (40°41'S) hasta Tierra del Fuego (54°50'S).

Se encuentra en lugares húmedos y protegidos, a orillas de los ríos, cascadas y en las proximidades de lagos y lagunas; desde el nivel del mar hasta los 1300 m s.n.m. (Fig. 35).

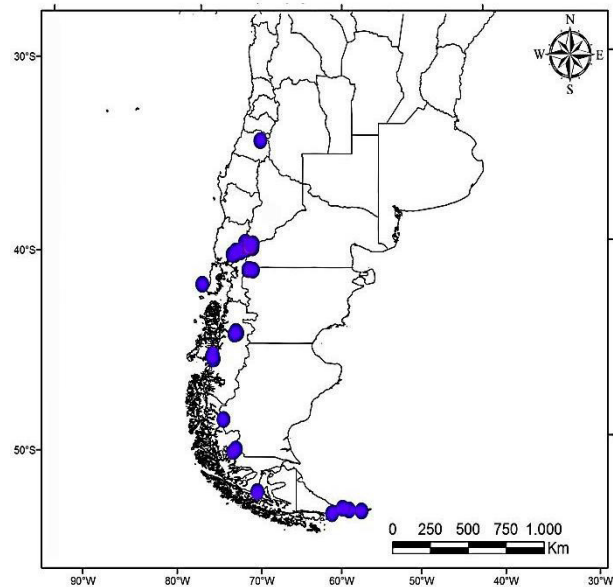


Fig.35. Distribución geográfica de *P. multifidum*.

Nivel de ploidía: n= 82; 2n= 164.

Variación morfológica: El carácter singular de esta especie es la mayor división de la lámina (3-4-pinnada) y la forma espatulada de los últimos segmentos. No obstante, individuos con frondes 3-pinnadas y algo menores en tamaño, también se encuentran dentro del rango de variación de esta especie.

Antecedentes nomenclaturales: George H. Mettenius describe *Aspidium multifidum* en *Filices Lechlerianae* (1856). Posteriormente, Thomas Moore (1857) transfiere de género este binomio quedando este taxón como *Polystichum multifidum* (Mett.) T. Moore.

Analizando los especímenes de herbario y observaciones a campo de *P. multifidum*, se ha encontrado una alta variabilidad en la división de la lámina y la densidad de las escamas del raquis. Se considera aquí que estas variaciones se relacionan con la edad de la planta, la intensidad de la luz que incide sobre sus frondes y en general con las condiciones en las que se desarrolla. *Polystichum pearcei* cae dentro del rango de variación de *multifidum*, se propone aquí como un sinónimo nuevo.

Nivel de confianza en la delimitación de la especie: Su estatus como especie está avalado por la morfología distintiva y los resultados citológicos y filogenéticos aquí presentados.

Especímenes examinados. **Chubut.** Dpto. Cushamen: Lago Puelo, *Koslowsky* 275 (BA). Dpto. no identificado: *Spegazzini* 274 (BA). **Neuquén.** Dpto. Los Lagos: Brazo Blest, arroyo Bravo, *Capurro* 21831 (BA). Parque Nacional Nahuel Huapi, Villa Puerto Manzano, *Diem* 2403 (LIL; SI). Cascada Santa Ana, *Moreno* 306 (CORD). **Río Negro.** Dpto. Bariloche: Parque Nacional Nahuel Huapi, Laguna Frías, camino al límite con Chile, *Hassel de Menéndez* 199 (BA). Parque Nacional Nahuel Huapi, Laguna Ortíz Basualdo, *Boelcke & Correa* 5369 (SI). Lago Nahuel Huapi, Isla Victoria, *Diem* 688 (SI). Dpto. no identificado: entre Lago Todos Los Santos y Lago Nahuel Huapi, *Hauman* 25 (BA). Dpto. no identificado: paso a Boquete Vicente Pérez Rosales, *Pérez Moreau* 248 (BA, LIL). **Santa Cruz.** Dpto. Lago Argentino: Lago Argentino, Puerto Ferrari, *Hicken* 9 (SI). **Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur.** Dpto. Ushuaia: Isla de los Estados, Bahía Libertad, *Dudley et al.* 1202 (LP). Península Mitre, Bahía Buen Suceso, *Dudley & Crow* 198 (SI). Bahía Aguirre, frente a desembocadura del Río Bonpland, *Cozzo s/n°*(BA). Dpto. no identificado: Península de Isla Grande, *Dudley* 158 (SI).

CHILE. X Región Los Lagos. Provincia Llanquihué: Puerto Varas, Peulla, sin colector (SI 60492). Cayutue. Faldeos del "Cerro Derrumbe", *Ilse von Renzels/n°*(SI24552). Parque Nac. Vicente Pérez Rosales. Camino al C° El Frutillar, *Villagrán-Soto* 4109/7218 (CONC 45154). **Provincia de Osorno.** Falda Norte del Volcán Osorno Potrero de Willers (o Millers), *Woeffluigel* 75 (SI 60501). **Provincia de Palena:** 22 km SE of Chaiten on gravel road to Pto. Cárdenas. *Stuessy et al.* 7088, "Nothofagus, Drimys forest. Scattered along edge of forest" (CONC 98120). Chaitén, ventisquero Yelcho, *Aedo* 7367 (CONC 161928). **XI Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo. Provincia Aysén:** Prov. Aysén. Río Simpson. Correntoso, *Mandujano s/n°* (SGO 131865). Patagonia occidental. Canal Messch Río Simpson, *Skottsberg s/n°* (SGO 83515). San Rafael, Ofqui, *Hicken* 21 (SI 160488). San Rafael, Ofqui, *Hicken* 30 (SI 160489). Entre Puerto Aysén y Coyhaique, *Garaventa* 4223 (SI

022493). Sobre el ventisquero en el faldeo de la montaña, *Reichert* 29 (SI). Aysén, Parque Nacional Laguna San Rafael, Cascada Río Saltón, *Pisano* 6288a, “Escaso en sitios claros del piso del bosque” (CONC 104533). Aisén Camino Coyhaique-Aisén. Puente Correntoso, *Barrera* 106 (SGO 100240). Aisén, camino Coyhaique-Aisén Los Torreones a 25 km de Aisén, *Barrera* 108 (SGO 100238). Río Exploradores, entre Río Verde y Río Teresa, 50 m, *Seki* 304 (CONC 37292). Reserva Nac. Río Simpson, *Rodríguez & Palfner* 4580 (CONC 167016). **Provincia de General Carrera:** se accede a mano izquierda de la carretera por un río que enfrenta el valle en donde nace el río Cajón, a mano derecha de la Carretera Austral, 4,5 km de gruta de San Sebastián y 165 km aprox. de Coyhaique, *Moreira* s/n° (SGO 151477). General Carrera, parte alta del río Ibáñez, acercándose a la zona de su nacimiento, *Solís* s/n° (SGO 151479). **Provincia de Coyhaique:** entre Puerto Aysén y Coyhaique, *Garaventa* 4223 (SI 022493). Camino de Coyhaique, *Pfister* s/n° (CONC 18523). **XII Región de Magallanes y de la Antártica Chilena.** Bahía del Indio, Lote San Isidro, valle del Río Yumbel, *Pisano* 3988, “En sitios húmedos y sombríos del bosque” (CONC 45076). Fiordo Peel, Río Murtillar, en bosque ralo, *Pisano* 601 (CONC 96221). Seno Última Esperanza, *Hicken* 382 (SI 60502, BA10857).

5. *Polystichum plicatum* (Poepp. ex Kunze) Hicken ex Hosseus, Trab. Inst. Bot. Farmacol. (Buenos Aires) 33: 9. 1915. Fig. 36.

Basónimo: *Aspidium plicatum* Poepp. ex Kunze, Linnaea 9: 94. 1834. TIPO:—[Chile. Bio-Bio], “Chile austr. In rupibus mont. Pico de Pilque in Cordillera de Antuco, Dec 1828. *E. Poeppig* (*Diar.* 745)” (lectotipo, W 0003927!, designado por R. Morero et al. 2016, PhytoKeys 65: 94. 2016; isolectotipos, HAL 0087543!, LE 00008146!, LE 00008147!, LE 00008148!, P 00636429!, P 00636430!, P 00636431!).

Etimología: plicatum: “plegado juntos”, en relación a las pinnas apretadamente dispuestas sobre el raquis.

= *Aspidium plicatum* Poepp. ex Kunze α *laxum* Kunze, Linnaea 9: 94. 1834.

= *Polystichum elegans* J.Rémy, Fl. Chil. [Gay] 6: 514. 1853. TIPO:—Chile. Prov. Colchagua, “Cordillera de Talcaagué, pie le Volcán de Cordier”, Feb 1831, C. Gay 29 (Lectotipo P 00636434!, designado por R. Morero et al., PhytoKeys 65: 96. 2016 [Segundo paso de lectotipificación después de Rodríguez Ríos 1987: 49]; isolectotipos, P 00636432!; P 00636435!).

≡ *Aspidium elegans* (J.Rémy) Sturm., Abh. Naturhist. Ges. Nürnberg 1: 182. 1858.

≡ *Polystichum mohrioides* (Bory) C. Presl var. *elegans* (J.Rémy) C. Chr., Ark. Bot. 10 (2): 17. 1910.

=*Polystichum mohrioides*(d’Urv.) C. Presl fo. *latifolia* Hicken, Anales Soc. Ci. Argentina 62: 171. 1906. TIPO:—[Argentina. Prov. de Mendoza. Dpto. San Carlos]. “Cordillera del Portillo de La Llaretta entre El Paso del Portillo (4300 m s.m.) y La Laguna del Diamante (3324 ms.m.)”, Mar 1900, F. Kurtz 11173 (lectotipo, CORD 00006865! Hoja A, designado por R. Morero et al. 2016, PhytoKeys 65: 97. 2016; isolectotipos, CORD 00006866! Hoja B, SI 000111!).

Rizomas erectos o ascendentes, de 2-5 cm de diámetro, escamas rizomáticas lineares, de 5-15 × 0,5-1 mm, castañas. **Frondes** aglomeradas, erectas o curvadas, de 25-70 × 2-10 cm; **pecíolos** de ¼ la longitud de la fronde, robustos, surcados dorsalmente, castaño oscuro pasando al verde brillante cerca del raquis primario, escamas peciolares ovado-lanceoladas, de 10-20 × 3-6 mm, margen entero o paucidentado, las mayores bicoloras con el centro atropurpúreo y los márgenes castaño-anaranjados; **láminas** 6-7 veces más largas que anchas, lineares a elípticas, 2-pinnadas, verde brillante a igual que los raquis, ápice acuminado; **raquis**, acanalados dorsalmente, escamas del raquis lanceoladas, de 6-15 × 2-3,5 mm, dentadas, amarillo claro, semejantes a las presentes en el envés de las pinnas; **pinnas** contiguas o imbricadas, de 20-60 × 10-17 mm, ápice acuminado, ascendentes, las basales perpendiculares al raquis y reducidas en longitud a menos de la mitad de la pinna media;

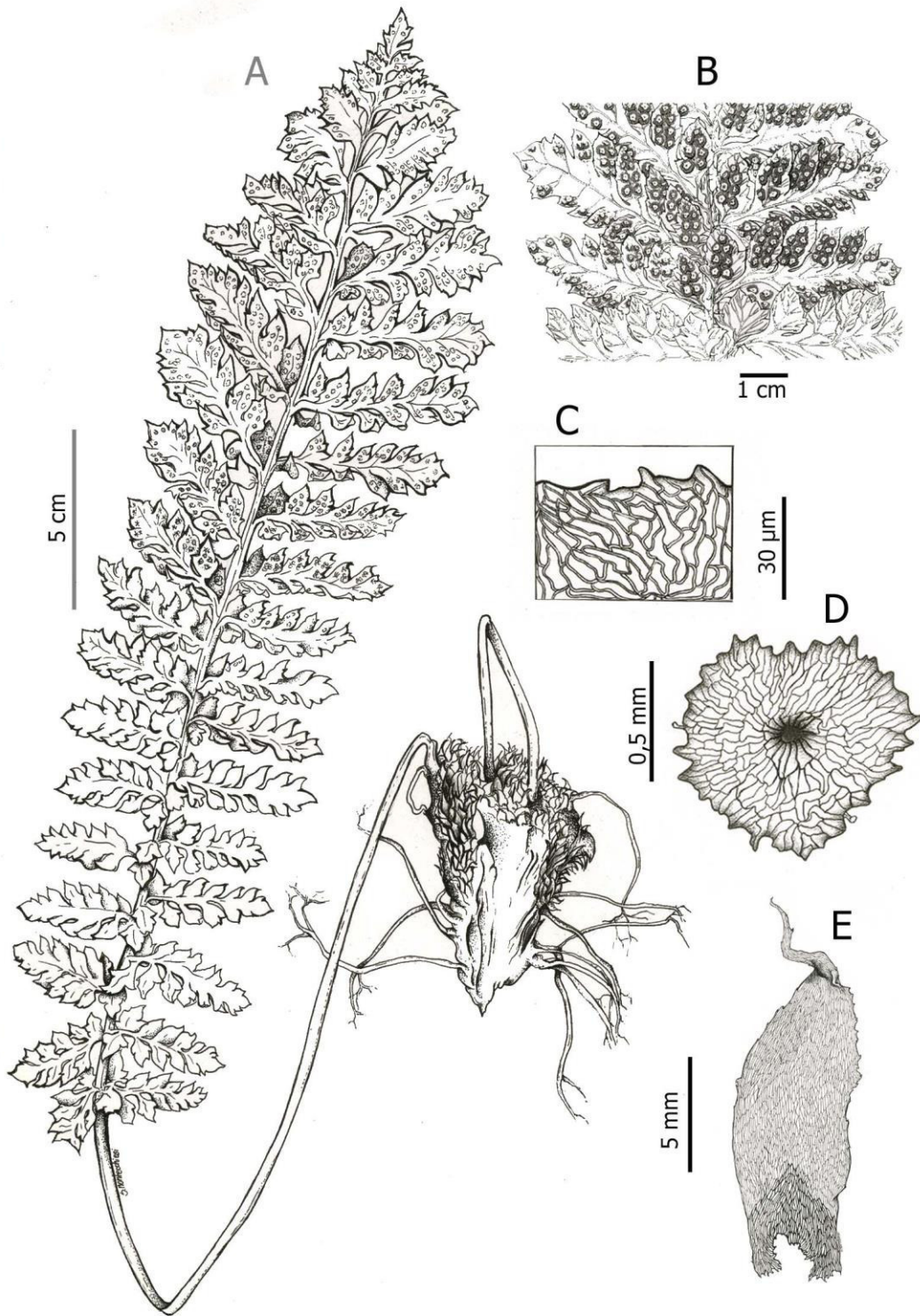


Fig. 36. *Polystichum plicatum*. A. Aspecto de la planta. B. Porción de la lámina mostrando la disposición de los soros. C. Detalle del margen del indusio. D. Indusio en vista superior. E. Escama del pecíolo. Dibujó Silvana Montecchiesi (CORD).

pínnulas 6 a 8 pares, elíptico-lanceoladas, aurícula poco conspicua, margen lobado o levemente aserrado, sin espínulas, coriáceo-carnosas, el primer par basal de pínnulas, más desarrollado y pinnatífido, en especial la acroscópica. **Soros** en el tercio o cuarto superior de la lámina; indusioorbicular, márgenes ondulados o lacerados, con área central deprimida. **Esporas** cóncavo-convexas en vista ecuatorial, elípticas en vista polar, de 25-33 × 28-35 μm, perisporio castaño, no plegado.

Distribución geográfica y hábitat. Habita en Chile y Argentina. En la Argentina se la encuentra desde la precordillera en Mendoza (33°25'S) y sistema de Ventania en Buenos Aires (37°41'S), hasta el sur de Tierra del Fuego (54°56'S). Crece gregariamente en ambientes rocosos y expuestos; también vive en forma solitaria en lugares umbrófilos del sotobosque. Vegeta desde el nivel del mar (en Tierra del Fuego) hasta los 1800 m s.n.m., pudiendo superar los 4000 m s.n.m. en la cordillera mendocina. En Chile, tiene mayor rango de distribución latitudinal, encontrándose desde la provincia de Choapa (31°18') hasta la Isla Navarino, en la provincia Antártica Chilena (55°15'S) (Fig. 37).

Nivel de ploidía: n= 82; 2n= 164.

Variación morfológica: Los caracteres morfológicos distintivos de esta especie son las láminas estrechas con las pinnas oblicuas y apretadamente dispuestas; sin embargo se ha observado que las plantas que crecen en ambientes menos expuestos, como en el sotobosque, exhiben láminas con las pinnas menos oblicuas y más laxas. Al no haberse encontrado diferencias en cuanto al número cromosómico entre estos especímenes ni tampoco son discriminados en los análisis

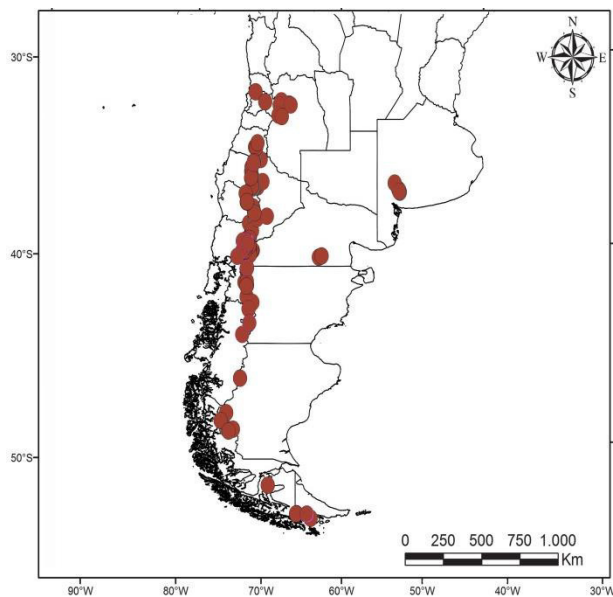


Fig. 37. Distribución geográfica de *P. plicatum*.

filogenéticos, se considera que ambos fenotipos se encuentran dentro del rango de variación de la especie.

Antecedentes nomenclaturales: Esta especie fue originalmente descrita por G. Kunze (1834) bajo el género *Aspidium*; luego, C.M. Hicken (en Hosseus 1915: 9) la transfiere al género *Polystichum*.

En la descripción de *A. plicatum* (1834: 94), Kunze no cita ningún espécimen como tipo, pero seguidamente reconoce dos variedades (α *laxum* y β *rigidum*), citando aquí un espécimen tipo para cada variedad. De acuerdo al Código Internacional de Nomenclatura (Arts. 9.5 y 26.2, McNeill et al. 2012), un lectotipo para la especie puede ser seleccionado de los tipos de cualquiera de las dos variedades. Las características dadas en el protólogo para la var. *rigidum* concuerdan estrechamente con la descripción de *A. plicatum*, por esta razón, se selecciona uno de los especímenes de la colección tipo de esta variedad como lectotipo (W-0003927!). Entre los isolectotipos del herbario LE, hay dos especímenes también de Poeppig (LE00008146! y LE00008148!), que se consideran aquí, duplicados.

Por otra parte, como ya fue explicado precedentemente en *P. mohrioides*, esta especie ha sido erróneamente identificada como *P. elegans* J.Rémy, *P. mohrioides* fo. *latifolia* Hicken y *P. mohrioides* var. *elegans* Christensen (Ver Apéndice 6).

Nivel de confianza en la delimitación de la especie: Si bien las poblaciones exhiben variabilidad morfológica (explicado precedentemente), el estatus de especie está avalado por los datos cromosómicos y filogenéticos aquí presentados.

Especímenes examinados. ARGENTINA. Buenos Aires. Partido de Saavedra: Cerro Curamalal Grande, *Villamil* 4001 (SI). Sierra de Cura Malal, Sierra de Cura Malal Grande, *Cabrera* (SI). Partido de Tornquist: Sierra de la Ventana, *Hauman-Merck* (SI). Sierra de la Ventana, *Fabris* 1019 (SI). Tornquist, *Spegazzini* (SI). Tornquist, Cerro Ventana, *Burkart & Múlgura* 28121 (SI). Cerro Tres Picos, *Villamil* 4022 (SI). **Chubut.** Dpto. Futaleufú: Lago Futalaufquen, *Capurro* 1569 (BA 67188). Parque Nacional Los Alerces, Cordón Situación,

Pérez Moreau s/n° (BA). Río Corcovado, *Illín* (BA 39031, SI). Dpto. Languiñeo: Carrenleufú, *Illín* 545 (SI). Dpto. Tehuelches: Lago Cuatro, en ladera rocosa antes del lago, *Nicora* 9348 (SI). Dpto. no identificado: *Spegazzini* 544 (SI). **Mendoza.** Dpto. San Carlos: San Carlos, Quebrada de La Horqueta, *Roig* 4641 (LP). Dpto. Tunuyán: Campo de los Andes, *Perez Moreau s/n°* (BA). Portillo de La Llaretá, Rincón de los Arenales, 2572 m s.n.m. *Benenati* 11181 (CORD). Resguardia del Portillo, *Serrano* 11175 (CORD). Cordillera del Portillo de La Llaretá entre El Paso del Portillo (4300 m) y La Laguna del Diamante (3324 m), Rincón de los Arenales, *Benenati* 11181 (CORD). **Neuquén.** Dpto. Aluminé: Lago Ruca Choroí, *Eskuche* 1399-22 (SI). De Ñorquincó a Aluminé, Ruta Provincial 11, Parque Nacional Lanín, *Zuloaga et al.* 12656 (SI). Lago Moquehue, *Zuloaga et al.* 12641 (SI). Dpto. Catán Lil: Camino a Las Coloradas desde Zapala, *Valleriniet al.* 3384 (SI). Dpto. Huiliches: Parque Nacional Lanín, Lago Paimún, Monte Huemul, *Toledo* 80 (CORD). Estancia Las Breñas, Paso Cerrado, comienzo del Cañadón del Saltillo, en la base de paredón rocoso, sotobosque de *Austrocedrus*, *Biganzoli* 1221 (SI). Junín de los Andes, entre Fortín Maipú y Laguna Lolog, *Kurtz* 6391 (CORD Hoja A, B). Dpto. Lacar: San Martín de los Andes, frecuente, en los bosques y en las grietas de la pendiente, *Hicken* 2 (SI). Lago Falkner, Camino de los Siete Lagos (Ruta 234), *Morero* 237, “sobre ladera húmeda y umbrosa” (CORD). Dpto. Loncopué: Desde Loncopué a Caviahué, en el Cajón Hualcupén, *Barboza et al.* 2431 (CORD). Dpto. Los Lagos: Villa Puerto Manzano, Lote 7, *Diem* 3598 (SI). Villa Puerto Manzano, subida al C° Cortinario, *Diem* 3261, “en bosque de Lengua, cerca de un arroyo” (LP). Dpto. Minas: Cajón de los Chenques, *Boelcke et al.*, 13818 “en grietas de rocas” (SI). Dpto. Ñorquín: Baños de Copahue, cerca de Ñorquín, *Kurtz* 6248 (SI). Baños de Copahue, cerca de Ñorquín, *Kurtz* 6848A (SI). Dpto. Aluminé: Cerro Bella Vista, *Hosseus* 1039 (CORD). **Río Negro.** Dpto. Bariloche: Parque Nacional Nahuel Huapi, Ventisquero Frías, *Boelcke&Correa* 5566 (SI). C° Otto, a 5 km de la Ciudad de Bariloche, *Morero* 242 “en afloramientos rocosos, lugar expuesto” (CORD). C° Otto, Virgen de las Nieves, *Morero* 236 (CORD). Sendero peatonal C° López, *Morero* 260 (CORD). C° López, sobre margen del camino de acceso vehicular, *Morero* 293 (CORD). C° Otto, *Morero* 241 (CORD). Acceso a la base del C° Tronador, camino al Glaciar Río Manso (Garganta del Diablo), *Morero* 288 (CORD). Nahuel Huapi, Laguna

Frías, *Burkart* 6282 (SI). Bariloche, *Burkart* 6448 (SI). Dpto. no identificado: Lago Nahuel Huapi, *Fernández* s.n.(BAB, SI). **Santa Cruz**. Dpto. Lago Argentino: Lago Argentino, Los Laberintos, C° Huiliche, Estancia Anita, El Calafate, *Guerrido* 329 (SI). Parque Nacional Los Glaciares, Glaciar Perito Moreno, Costa E. Canal de los Témpanos, *Guerrido* 565 (SI). **Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur**. Dpto. Ushuaia: Lapataia, *Luti Herrera* 1723 (CORD). Lapataia, Río Ovando, *Reynoso* 5472 (BA). Canal Beagle, Punta Remolino, *Pennington* 422 (SI).

CHILE. V Región de Valparaíso. Provincia Marga Marga:Limache, Cerro La Campana, lado sur de la cumbre, *Garaventa* 4139 (CONC 154566, SI). **VI Región del Libertador General Bernardo O'Higgins. Prov. de Colchagua.** Cordillera de Talcaagué. Pies del volcán de Cordier, *Gay* 29 (P636434). **VII Región del Maule. Provincia de Curicó:** comuna de Molina, Cajón del Lontue, *Holp* 143 (SGO 83422). **Provincia de Linares:** Linares. Reserva Nacional Bellotos del Melado. Roquerío-bosque, *Arroyo et al.* (SGO 996213). Reserva Nacional Bellotos del Melado, *Humaña et al.* 20050, "quebrada húmeda" (CONC 149563). Linares, Termas de Longaví, Laguna de Los Huesos. *Castellanos s/n°* (BA 21556). **Provincia Talca:** Alto de Vilches. Camino a Laguna El Alto, *Finot&López* 1800 (CONC 147678). Laguna del Maule, *Gardner et al.* 4519 (E 28539). **VIII Región. Prov. Bio-Bio:** Camino a Laguna El Barco, *Mihoc et al.* 4596 "bosque mixto *Nothofagus*" (CONC 160319). Parque Nacional Laguna del Laja, sector Lagartija, *Baeza et al.* 3332 (CONC 154425). Reserva Nacional Ralco, *Mihocet al.* 4155, "bosque de lenga-araucaria" (CONC 159024). Alrededores termas de Copahue, *Muñón & Montandén* 3019 "crece entre las rocas" (SGO 118584). Parque Nacional Laguna del Laja, Chacay, sector Las Chilcas, *Baeza et al.* 3455 (CONC 154426). **Provincia de Ñuble:** Cordillera de Chillán (Baños de Chillán) prope Volcán Viejo, *Zañartíns/n°* (SGO). Refugio club Andino, Chillan (Shagrila), *Caraventa* 4682 (SI 154567). Pichirincón, *Rodríguez et al.* 5551 (CONC 159609). **Provincia de Ñuble.** El Candado, Cerro Huemul al lado del Río Polcura, *Mihoc et al.* 6622 "ladera con *Mutisia*" (CONC 164630). **IX Región de la Araucanía. Región de la Araucanía. Provincia Cautín:** Cautín: Volcán Llaima. Prado subalpino, *Sparre* 4908 (SGO 102140). Entre Lago Conguillio y Laguna Captrén. 2 km Estero Correntino, *Rodríguez* 2416 (CONC 157060). **Prov. Malleco.** Tolhuaca, sin colector

(SI 24494). **X Región de los Lagos.** Río Palena, Peñas del Cerro, *Delfin* 141 (SGO 83392). **XI Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo.** Aysén, Río Simpson, cerca de Coihaique, *Lise von Rentzell* 6195 (SI 060485). **XII Región de Magallanes y Antártica Chilena. Provincia de la Antártica Chilena:** Parque Nacional Yendegaia. Comuna de Cabo de Hornos. Estancia Yendegaia, near buildings and cliffs to south of buildings; fairly steep, *Goodall* 3766 “Very common” (VT, RNPG, NA, MU, BAB, UC). Santa María, *Donat* 344b (SI 160498). Isla Navarino (Ile Navarin), *Alboff* 874 (SI 60477, LP). **Provincia de Última Esperanza.** Magallanes Parque Nac. Torres del Paine, Lago Pehoe, *Barrera* 128 (SGO 100305). **XIII Región Metropolitana de Santiago. Prov. Santiago:Peñalolen,** *Looser* 932 (SI 160500). **XIV Región de Los Ríos. Provincia Valdivia.** Camp. Valdiviense, *Dusén* 19/297 (SGO 83425).

6. *Polystichum subintegerrimum* (Hook. & Arn.) R. Rodr., *Gayana, Bot.* 44: 48. 1987. Fig. 38.

Basónimo: *Aspidium subintegerrimum* Hook. & Arn., *Bot. Beechey Voy.*: 52. 1832. TIPO:—Chile. Concepción, *sin colector, s.n.* (K 000590468!).

Etimología: *subintegerrimum*, “casi entero”, por el margen de los segmentos escasamente dividido.

≡ *Polystichum aculeatum* (L.) Schott var. *subintegerrimum* (Hook. & Arn.) C. Chr., *Index Filic.*: 576. 1906.

= *Polystichum brongniartianum* J.Rémy, *Fl. Chil.* [Gay] 6: 518. 1854. TIPO:—[Chile. Concepción]. Llanquihue: Peulla, 13 Jun 1953, A. Pfister *s.n.* (Neotipo, CONC 13555!, designado por R. Morero et al., *PhytoKeys* 65: 96. 2016).

≡ *Aspidium brongniartinum* (J. Rémy) Sturm, *Abh. Naturhist. Ges. Nürnberg* 1: 181. 1858.

≡ *Polystichum aculeatum* (L.) Schott var. *brongniartianum* (J.Rémy) C. Chr. *Index Filic.*: 576. 1906.

Rizomas erectos, escamas linear-lanceoladas, castaño oscuro. **Fronde**s curvadas, 25-75 (100) × 7-30 cm; **pecíolos** de 1/3 a 1/2 la longitud de la lámina, con escamas esparcidas y más densas en la base, escamas lanceoladas, de 12-18 × 3-5 mm, margen dentado, bicoloras, centro castaño oscuro a negro, márgenes castaño rojizos claro, que cubren otras escamitas castaño amarillentas; **láminas** ca. 4 veces más largas que anchas, lanceoladas, 2-pinnadas, porción apical pinnada, elongada; **raquis** acanalado, escamas del raquis triangulares a lineares, de 2-5 × 0,7-1 mm, base provista de dientes largos, concoloras, castaño claras; **pinnas** 14-26 pares, 3 veces más largas que anchas, perpendiculares al raquis, las basales algo descendentes, iguales en longitud a las medias o algo reducidas, extremo acuminado o pinnatífido en las hojas más grandes; **pínnulas** 6-10(-12) pares, frecuentemente el primer par más desarrollado, aserradas hacia el ápice y con espínulas débiles, cartáceas. **Soros** ocupando más de la mitad del envés de la fronde; indusios redondeados, margen lacerado. **Esporas** plano convexas en vista ecuatorial, subcirculares en vista polar de 38-50 × 28-33 μm; perisporio castaño claro, no plegado.

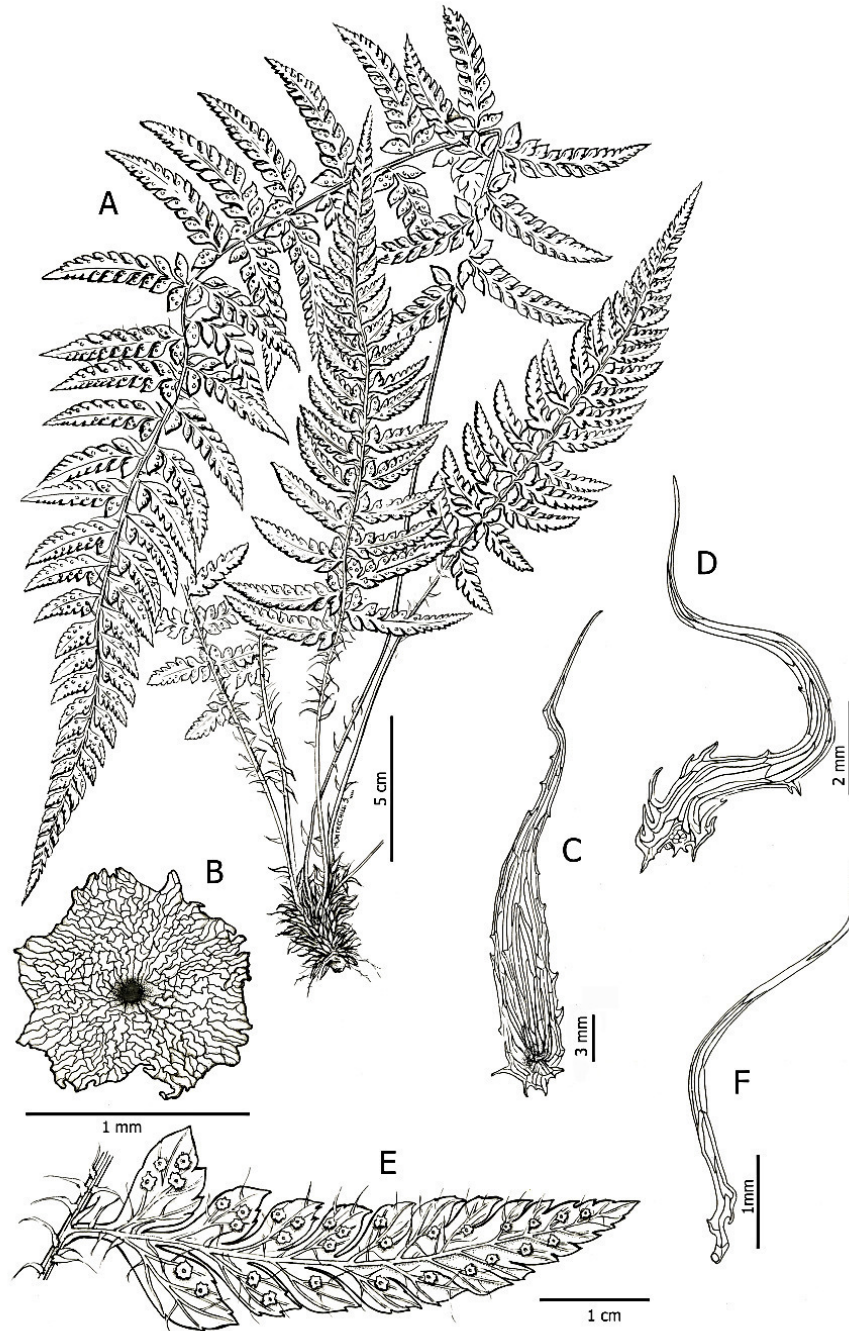


Figura 38. *Polystichum subintegerrimum*. A. Aspecto general de la planta. B. Indusio, vista de la cara superior. C. Escama de la región basal del pecíolo. D: Escama del raquis. E: Detalle del envés de una pinna mostrando los soros e indumento. F: Escama del envés de las pínulas. Dibujó Silvana Montecchiesi (CORD).

Distribución geográfica y hábitat. Habita en Chile desde la provincia de Cauquenes (35° 59'S) hasta la provincia de Chiloé (42°38'S), desde el nivel del mar hasta los 1200 m s.n.m. En la Argentina se encuentra en la región Andino Patagónica de Chubut y Río Negro, entre los 300-1400 m s.n.m., sobre todo en los sectores más occidentales (cercanos al límite con Chile), con elevados promedios anuales de precipitación, a orillas de ríos y cascadas (Fig. 39).

P. subintegerrimum era considerada endémica para Chile (Rodríguez Ríos, 1995) y fue catalogada como vulnerable según los criterios UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) por Baeza *et al.* (1998). Las observaciones a campo y la escasa representación en las colecciones de los herbarios consultados permiten inferir que, en Argentina, esta especie presenta baja densidad poblacional y distribución restringida.

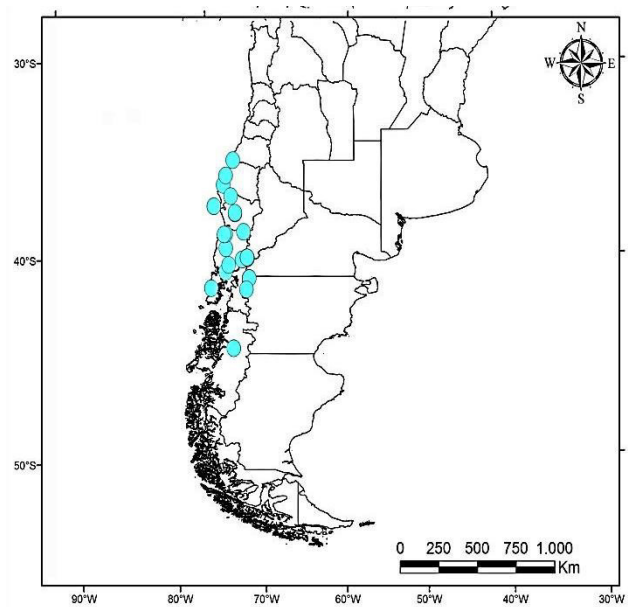


Fig. 39. Distribución geográfica de *P. subintegerrimum*.

Nivel de ploidía: $2n = \text{ca. } 328$.

Variación morfológica: Los ejemplares de herbario examinados de Argentina y Chile y las observaciones a campo indican que se trata de poblaciones donde el tamaño de los individuos oscila entre 20-80 cm de largo. Sin embargo, al analizar la descripción original y el ejemplar tipo de *P. subintegerrimum* observamos que ambos se refieren a plantas grandes (hojas de ca. 100 cm de largo), por lo que se estima que corresponderían a fenotipos más bien raros y extremos de la especie, pues sólo dos especímenes de herbario, de envergadura similar, han sido encontrados. Corroboran estas observaciones,

la información e ilustraciones aportadas por Looser (1968) para esta especie bajo el nombre *P. brongniartianum*.

Antecedentes nomenclaturales: William J. Hooker, y G.A. Walker Arnott, basándose en un ejemplar colectado en Chile (Concepción), describen *Aspidium subintegerrimum* en “The Botany Captain Beechey’s Voyage” (1832). Esta obra reúne la información de las plantas halladas en el viaje al Pacífico y estrecho de Bering, en el barco Blosson, comandado por el Cap. Beechey (1826-1828). Posteriormente, Rodríguez Ríos (1987) la transfiere al género *Polystichum*. Al mismo tiempo, este autor, sinonimiza *P. brongniartianum* bajo *P. subintegerrimum*.

El espécimen tipo de *P. brongniartianum* (C. Gay s. n.), citado por Rémy (1854), se supone debería estar depositado en el herbario P como la mayoría de los ejemplares de Gay; sin embargo, después de una cuidadosa búsqueda, no se ha encontrado material tipo con este nombre. Tampoco fue encontrado por otros taxónomos de helechos en otros herbarios (Christensen 1910, Looser 1968, Rodríguez Ríos 1987). Por esta razón, se propone en este trabajo, el ejemplar CONC-13555 como neotipo, porque se ajusta a la descripción de Rémy en su más estrecha interpretación.

Nivel de confianza en la delimitación de la especie: La información morfológica y citológica, además de la filogenética, respaldan su estatus como especie.

Especímenes examinados. ARGENTINA. Chubut. Dpto. Cushamen: Parque Nacional Lago Puelo, Arroyo de Los Hitos, *Vidoz* 104 (LP). Dpto. Futaleufú: Sotobosque, *Biganzoli* 1838 “ocasional” (SI). **Río Negro.** Dpto. Bariloche: Parque Nacional Nahuel Huapi, Puerto Blest, al costado del arroyo Los Cántaros, *Morero* 246 (CORD). Laguna Frías al Boquete Pérez Rosales, 384 m, *Pérez Moreau* 1010 (BA). Nahuel Huapi, Laguna Frías, *Burkart* 6284 (SI). Parque Nacional Nahuel Huapi, Laguna Frías, costa del lago, *Müller & Reynoso* 3580 (BA).

CHILE. VII Región del Maule. Provincia de Cauquenes: Reserva Nacional Los Queules, Tregualemu, *San Martín* 1514 (CONC 149929). **VIII Región del Biobío. Provincia de Arauco:**

Isla Mocha, camino entre el Faro Oeste y La Hacienda, Cordón Central, *Weldt & Rodríguez* 1105/400 (CONC 35331). Isla Mocha. Camino entre La Hacienda y Laguna Hermosa, Cordón Central, *Weldt & Rodríguez* 1172/467 (CONC 35337). Lebu, fundo de T. Ebensperger, *Behn* s/n (CONC 20049). **Provincia de Concepción:** Colcura, Loma del Ganado, *Rodríguez R.* 352 (CONC 157588). Dpto. Talcahuano, Parque Hualpén, *Carrasco* 40 (CONC 38005). **Provincia de Ñuble:** Recinto, *Espinosa* s/n° (SGO 95687). Chillán, *Grandjot* s/n° (SGO 83510). **IX Región de la Araucanía. Provincia de Cautín:** Loc. Temuco, *Montero* 1081 (CONC 64116). Dpto. Victoria. Along the road to Laguna Malleco, Salto de la Culebra and Laguna Verde; *Morrison & Wagenknecht* 17522 “sandy places, 950-1050 m, fern 0,3 m” (CONC 311208). **X Región de Los lagos. Provincia de Llanquihue:** Parque Nacional Vicente Pérez Rosales, *Rodríguez* 3822 (CONC 157493). **X Región de Los Lagos. Provincia de Chiloé,** Ancue, *Skottsberg* 210 [o 310] (SGO 83470). **Provincia de Llanquihue:** Parque Vicente Pérez Rosales, Cerro Derrumbes, *Villagrán* s/n° (SGO 102664). Isla Helvecia (Calbuco), *Ruiz* s/n° (SGO 83479). Calbuco, *Jaffuel* 4146/7308 (CONC 46084). Puerto Varas, Peulla, s/colector s/n° (SI 60492 Hoja B). Peulla, *Hicken* 73 (SI 160857). **XI Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo. Provincia de Aysén:** Camino Coyhaiqué-Aysén. Pte. El Moro, *Barrera* 100 (GH 100247). **Provincia de General Carrera.** Hacia el sur subiendo por el cerro detrás de la gruta de San Sebastián ubicada ca. 160 km desde Coyhaique al sur por la Carretera Austral. *Moreira* s/n°, “Bosque de lenga subtipo lenga-coihue de Magallanes” (SGO 151474). **XIV Región de los Ríos Valdivia. Provincia de Ranco:** Llifén (Lago Ranco), *Pfister* 402 (CONC 20051). **Provincia de Valdivia:** prope urbem Valdiviam, *Lechler&Hokenacker* 515 (K 000590469). Comuna de Valdivia. Niebla, *Gotrshlvih* (SGO 83513). Quinchilca, *Hollermayer* 1010 (LP 37436).

7. *Polystichum tetragonum* Fée, Mém. Foug. 8: 99. 1857-1858. **Fig. 40.**

TIPO:—“Chili (C. Gay) C’est le *P. vestitum*, de Remy (P, Fl. Chil. Crypt., p. 517; évidemment différent de la plante de Swartz” (P00636355!).

Etimología: tetragonum, “Con cuatro ángulos, cuadrangular”, en relación al pecíolo y raquis, algo cuadrangulares en sección transversal.

Rizomas erectos a veces ascendentes, cilíndricos, de 1 a 3 cm de diámetro, llegando a formar un tronco leñoso de unos 25 cm de altura y unos 6 cm de diámetro con las bases persistentes de los pecíolos viejos; escamas rizomáticas lanceoladas, de 4-5 x 18-20 mm, margen entero, bicoloras, atropurpúreas en el centro, hacia el borde castaño claro, margen entero o paucidentado. **Frondes** de 45-130 cm de largo, dispuestas en roseta; **pecíolos** 1/2 a 1/3 del largo de la fronde, algo cuadrangulares al igual que el raquis, surcados dorsalmente, verdosos, escamosos en la base, escamas mayores bicoloras, centro atropurpúreo, bordes castaño anaranjados, margen entero o con algunos dientecillos, las jóvenes con glándulas unicelulares; **láminas** 2 veces más largas que anchas, elípticas, 2-pinnadas a 2-pinnadas pinnatisectas, verde brillantes, ápice pinnatífido; **raquis** verdes, escamas angostamente lanceoladas, concoloras, anaranjadas a doradas, margen dentado, base con dientes más largos y ramificados; **pinnas** (20-)24-33(-38) pares, de (7,5-)11-15(-20) cm de largo, curvadas hacia el ápice, extremo pinnatífido, las basales divergentes y descendentes, iguales en longitud a las pinnas medias o algo reducidas; **pínnula** basal acroscópica pinnatisecta a pinnada, el resto de las pínnulas, con borde aserrado y un lóbulo basal acroscópico bien notable, espínula débil en el extremo. **Soros** ocupando todo el envés de la fronde, indusios redondeados, margen lacerado, ocasionalmente con algunas glándulas unicelulares.

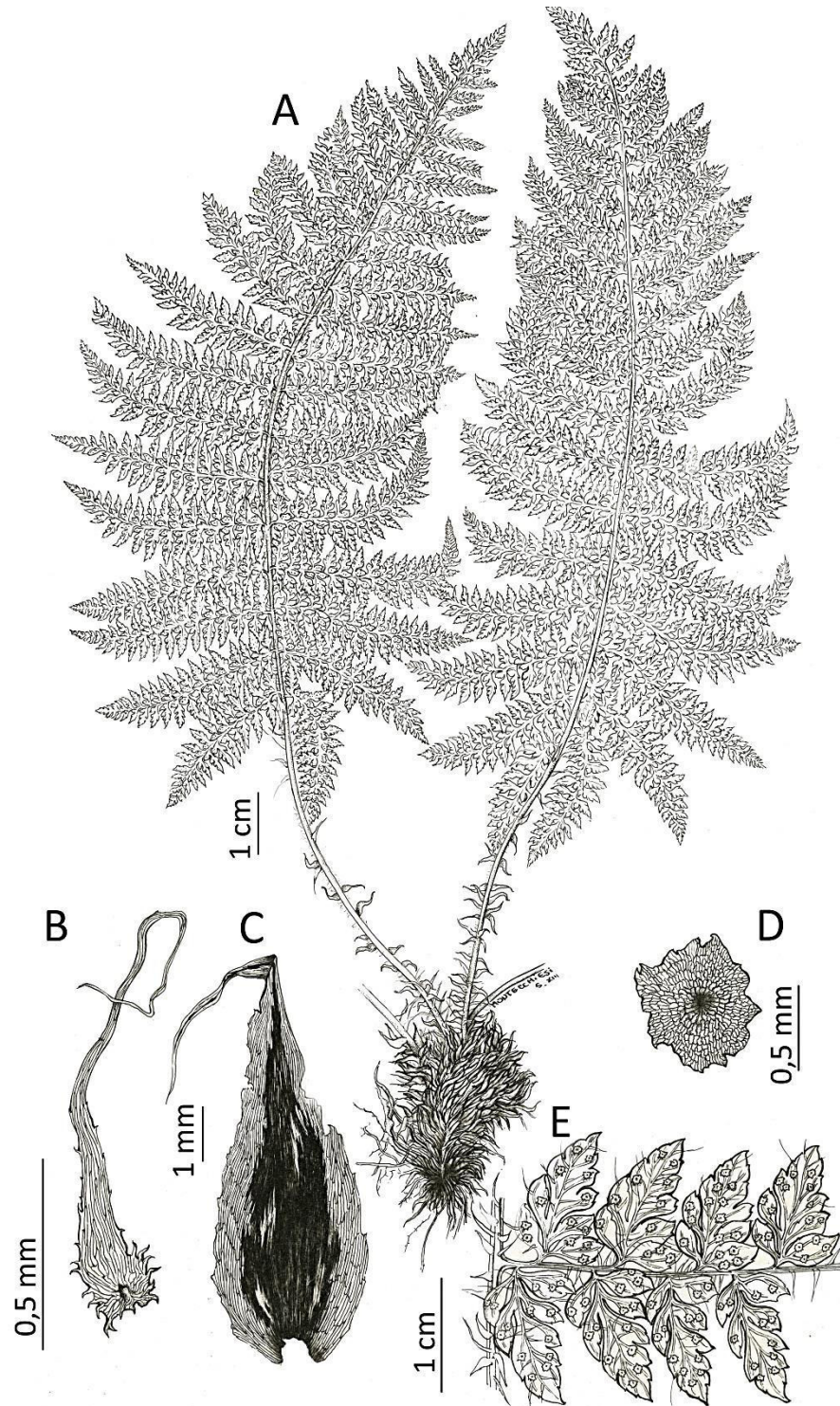


Fig. 40. *Polystichum tetragonum*. A. Aspecto general de la planta. B. Escama del raquis. C. Escama de la región basal del pecíolo. D. Indusio, vista de la cara superior. E: Detalle de un sector del envés de una pinna mostrando los soros e indumento. Dibujó Silvana Montecchiesi (CORD).

Distribución geográfica y hábitat. Endémica del Archipiélago Juan Fernández (Isla Robinson Crusoe e Isla Alejandro Selkirk), Chile. En la Isla R. Crusoe, las poblaciones habitan en el sotobosque en condiciones umbrófilas y húmedas e igualmente se las encuentra en los acantilados rocosos y en lugares abiertos, entre los 180 a 700 m.s.n.m. En la Isla A. Selkirk, vive en las quebradas, sotobosque y en lugares abiertos entre los 400-1200 m s.n.m. (Fig. 41).

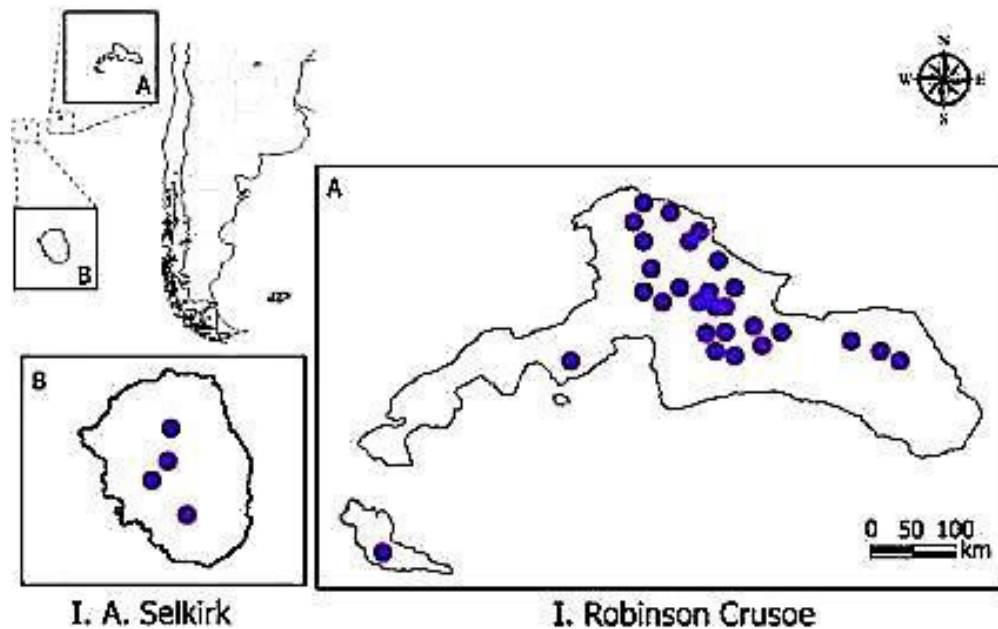


Fig. 41. Distribución geográfica de *P. tetragonum*

Nivel de ploidía: $n= 82$; $2n= 164$.

Variación morfológica: Presenta una considerable variación en el tamaño de los individuos (40-150 cm de altura) y también en la disección de la lámina, de 2-pinnada a 2-pinnada-pinnatisecta.

Antecedentes nomenclaturales: A. L. A. Fée describe a *P. tetragonum* en Mémoires sur les familles des fougères (1857); no obstante ser un nombre válido para la especie, estas

plantas fueron erróneamente identificadas por varios autores. Así, Rémy, en Flora de Chile (Gay, 1857: 517) emplea el binomio *Aspidium vestitum* (G. Forst.) C. Presl, para designar este grupo de helechos. Por su parte, Christensen (1910: 18), identifica estas plantas como *P. orbiculatum* (Desv.) Gay, argumentando que “si todas las formas chilenas de [*Polystichum*] *aculeatum* sin dientes mucronados están referidas al *P. orbiculatum* como lo describe el Dr. Christ, los especímenes de J. Fernández deben ser llamados así”. El mismo autor aclara que fueron erróneamente denominadas por Gay (Flora de Chile) como *P. vestitum*, pues estos especímenes no corresponden al *P. vestitum* (Forst.) Sw. de Nueva Zelanda. Asimismo, otros autores como Hemsley (1885: 74) y Iohowla (1892: 67) las denominaron erróneamente *Aspidium aculeatum* Swartz.

Nivel de confianza en la delimitación de la especie: No presenta en la actualidad conflictos nomenclaturales y su identificación no plantea inconvenientes.

Especímenes examinados. CHILE, Región V. Provincia de Valparaíso. Dpto. Valparaíso. Archipiélago de Juan Fernández: Isla Robinson Crusoe (= Isla Masatierra): Quebrada de la Damajuana, Sparre 290 (CONC 18632, VT). Corrales de Molina, down from Damajuana ridge (S. Side), Stuessy et al. 12033 “Typical Villagra-like vegetation. Scattered on edge of rocky, shady outcrops” (CONC 121949). Cerro Agudo, 4th quebrada, Stuessy & Soto 11911 “Forest of tree ferns, *Drimys*, *Corposma*, etc.” (CONC 121938). Cerro Agudo, 4th quebrada. Wiens et al. 11196 “Forest of tree ferns, *Drimys*, *Corposma*, etc.” (CONC 116499). Down from Damajuana, Stuessy et al. 15094 (CONC 135695). Camino al Portezuelo, en los matinales de maqui cerca del estero, Looser s/n° (CONC 134858). Up trail from Mirador Selkirk, Stuessy et al. 11050 “Ferns on side of trail. Common under *Drimys* and *Myrceugenia*” (CONC 116874). Down into Valle Villagra, then up from trail at 280 m into forest. *Myrceugenia* dominant, steep slopes, making a semicircle up to 370 m in the quebrada opposite the two cabins below, then down to the road at 230 m. Bellow Cerro Agudo (5th quebrada); Cerro Tortuga further to the west. Stuessy et al. 11050, “scattered in forest” (CONC 116874). Down into Valle Villagra, then up from trail at 280 m into forest. *Myrceugenia* dominant. Steep slopes. Making a semicircle up to 370 m in the quebrada

opposite the two cabins below, then down to the road at 230 m. Bellow Cerro Agudo (5th quebrada); Cerro Tortuga further to the west, *Stuessy et al.* 15397 "Scattered in forest" (CONC 136935). Sendero from View point Alexander Selkirk to Sector Villagara, *Gardner et al.* 65 (CONC 162356). Up Cordon Central from San Juan Bautista, open ridge with *Ugnimolinae* and *Pernnettya rigida*. Down from ridge of Cordon Central, *Stuessy et al.* 11110 "Common under *Myrceugenia*" (CONC 116496). Along the track to the Mirador. *Swenson* U. 404 (CONC 135601). Subida al Mirador Selkirk desde San Juan Bautista, Agua del Guindal, *Martcorena et al.* 9004 "Bosque de *Drimys* y *Myrceugenia*. En lugar húmedo" (CONC 52505). Masatierra, *Brunner s/n°* (CONC 96380). Isla Masatierra, *Garay s/n°* (CONC 39907). Desde Bahía Cumberland hacia Centinela, *Angulo* 99 (CONC 43875). Entre Puerto Inglés y Cerro Alto, *Angulo* 220 (CONC 45048). On path from pueblo San Juan Bautista to Mirador Selkirk, *Stuessy & Sanders* 5017 "Just to into native forest of *Drimys confertifolia* and *Nothomyrica fernandeziana*, abundant along trail, fronds to 1 m, often hanging down over slope" (CONC 52727). Walder a fupe des Yunque, *Bock* 30 (CONC 96377). Portezuelo de Villagra, *Behn s/n°* (CONC 24372). Cerro Agudo, down into 2nd valley on Villagra side, *Stuessy et al.* 11643a "Abundant in quebrada" (CONC 116903). South side of Cerro Alto, *Meyer* 9549 "Plant tufted and forming a short trunk about 14 in tall. In shade of trees on rock ledge at base of cliff. Common" (LP). Pangal, *Solbriget et al.* 3837 (LP). En sendero a El Mirador. *Morero* 323 "En el margen del sendero peatonal. Individuos con láminas 2-pinnadas pinnatifidas, 113 cm de largo" (CORD). En sendero a El Mirador. *Morero* 322 (CORD). Bosque La Plazoleta, El Yunque. *Morero* 325 "En un claro de bosque de "Luma" *Myrceugenia fenandeziana* y "Naranjillo" *Zanthoxylum mayu*. Con soros" (CORD). Isla Robinson Crusoe. Mirador Alejandro Selkirk, *Morero* 326 (CORD). Isla Robinson Crusoe. En sendero, a El Mirador. *Morero* 327 "Al costado del sendero peatonal. Individuos con láminas bipinnadas, frondes alrededor de 60 cm de longitud, en lugares húmedos y con poca luz directa" (CORD). Along the road to Mr. Weber's house, *Wagenknecht* 18514 "Among bushes. Fern 0.4 m"(LIL 109445, VT). Cordón Salsipuedes, *Martcorena et al.* 9109 "Bosque de *Myrceugenia* y *Rhaphithamnus*. Plantas abundantes con frondas de hasta 1.5 m" (CONC). Bajada desde Portezuelo Puerta de Trancas hacia Vaquería.

Marticoarena & *Ugarte* 9071 “Bosque de *Drimys* y *Fagara*” (CONC 52568). Cerro Pascua, Quebrada Michay, parte alta, *Marticoarena* et al. 9155 “En bosque de *Rhaphithamnus*, *Myrceugenia*, *Aristotelia*, etc.” (CONC 52552). En sendero a El Mirador. *Morero* 321 “Al costado del sendero peatonal, Individuos aislados o frecuentemente constituyendo poblaciones. Prefieren lugares húmedos, con soros” (CORD). Quebrada Pangal, *Sparre* 11 (CONC 18631, VT). Isla Masatierra, Pérez Moreau s/n° (BA 22931). **Isla Alejandro Selkirk (=Isla Masafuera)**: Quebrada de la Mata Maqui, on trail to Correspondencia camp, *Meyer* 9450 “Densely tufted from a thick woody caudex; fronds 3 ft. long, bottom of the ravine in Woodland” (VT). Base of the falls, Quebrada Angosta. *Meyer* 9420 “Densely tufted from stout woody caudex, scattered” (VT). Quebrada del Tongo. *Landerer* & *Gaete* 8497 “Forest of *Myrceugenia* and *Coprosma*, plants to 1 m, growing under *Myrceugenia*” (CONC). Quebrada just below and SE of ridge above Las Tres Torres; probably the upper part of Quebrada Inocentes. *Stuessy* & *Gaete* 9524 “On steep slope and down to bottom of quebrada, *Dicksonia externa* abundant, *Thyrsopteris* common, occasional trees of *Drimys confertifolia*. Very moist. Uncommon. Hanging down into quebrada bottom” (CONC 111887).

DISCUSIÓN

Los *Polystichum* Australes, a semejanza de otros grupos del género, son notorios por ser taxonómicamente complejos. La convergencia evolutiva, la amplia variabilidad fenotípica y la hibridación, son las causas que más dificultan la circunscripción de las especies. Si bien en *Polystichum* existe un número importante de caracteres morfológicos que pueden ser taxonómicamente informativos (Little & Barrington 2003), se han reportado algunos problemas que complican la identificación de las especies. Por ejemplo, la variación fenotípica asociada a las condiciones ambientales, el incremento del tamaño y la división de la lámina durante la vida del individuo y los cambios en el indumento (Barrington 2011). En cuanto a la variación fenotípica de los *Polystichum* Australes, se ha

observado especialmente que, en *P. plicatum*, las frondes tienden a ser colgantes y las pinnas están más laxamente dispuestas en los individuos que habitan el sotobosque a baja altitud, en tanto, las frondes son erectas y las pinnas se imbrican en las plantas que viven en ambientes más expuestos y a mayor altitud. Patrón similar ha observado Barrington (2011) en *Polystichum* de Costa Rica y McHenry & Barrington (2014) en las especies andinas. Otro carácter por el que suele incurrirse en errores de identificación es la división de la lámina. Por ejemplo, en *P. subintegerrimum* la división de la lámina suele incrementarse con el tamaño de la planta; variaciones equivalentes se reportaron para *P. alfaroi*, *P. harwegii* y *P. platyphyllum* (Barrington 2011). En cuanto al indumento, si bien las escamas y pelos son caracteres muy valiosos en *Polystichum*, se debe tener en cuenta al momento de comparar el indumento que la codificación debe hacerse en la misma posición y en el mismo órgano (Barrington 2005). Además es importante que las comparaciones se hagan en individuos de edades equivalentes, pues se ha observado que en las especies Australes, las escamas en los individuos más jóvenes, tienden a ser más pequeñas y menos pigmentadas.

En cuanto a la hibridación, cabe agregar que en este estudio se han detectado varios ejemplares de herbario con morfología intermedia, alta proporción de esporas anormales, esporangios colapsados e inclusive, en algunos casos, frondes con ápices bífidus, cuya identidad no fue posible asignar a ninguna de las especies Australes; muy probablemente se trata de plantas híbridas.

A partir de la identificación de aquellos atributos más constantes dentro de una especie y variables entre las especies, se elaboró la clave dicotómica que incluye todos los *Polystichum* Australes. En esta clave se han priorizado algunos caracteres morfológicos (cuali- y cuantitativos) que no fueron tenidos en cuenta o fueron subestimados en otras claves (Marticorena et al. 1995, de la Sota et al. 1998), tales como: la posición de los soros en el envés de la lámina, la posición y el tamaño de las pinnas basales, la presencia/ausencia de espínulas en el margen de los segmentos, el tamaño de las escamas del pecíolo y caracteres anatómicos como el número y características de las meristelas y la

presencia y posición de los pelos glandulares. Asimismo, la clave se ha organizado teniendo en cuenta el agrupamiento de las especies en los principales clados de la filogenia molecular.

El trabajo de laboratorio y de campo y una minuciosa revisión de los materiales de herbario, protólogos y tipos nomenclaturales, sustentan la delimitación de los taxones propuestos y sus áreas de distribución. No obstante, aún restan por resolverse algunas cuestiones:

1. Dos híbridos putativos (*Polystichum chilense* x *P. subintegerrimum* y *Polystichum multifidum* x *P. plicatum*), citológicamente documentados quedan por formalizarse. Sería necesario realizar nuevas colecciones de plantas híbridas y estudios citológicos y morfométricos complementarios para corroborar estas hipótesis de hibridación.

2. La identidad de *Polystichum nahuelhuapiense* Diem, es dudosa. Es posible que se trate de uno de los híbridos putativos.

3. La identidad de los representantes escamosos de *Polystichum* que habitan el extremo sur del continente e Isla de los Estados, aquí asignados a *P. chilense*, debería corroborarse con estudios citológicos y moleculares.

Con excepción de estos pocos casos, se logró describir y delimitar morfológicamente con precisión a las restantes especies.



CONCLUSIONES GENERALES

1. Caracterización citológica

Se caracteriza por primera vez citogenéticamente a todos los integrantes de los *Polystichum* Australes. Las especies son poliploides, a diferencia de los congéneres Andinos que son diploides. *Polystichum andinum*, *P. chilense*, *P. multifidum*, *P. plicatum* y *P. tetragonum* son tetraploides ($2n=4x=164$); el único octoploide es *P. subintegerrimum* ($2n=8x=ca.328$). Además, se detectó un híbrido putativo tetraploide y otro hexaploide ($2n=6x=ca. 240$).

En relación a la ploidía, la longitud de cada cromosoma disminuye a medida que aumenta el nivel de ploidía, lo que podría deberse al fenómeno de "reducción del genoma". Cuanto mayor es el nivel de ploidía mayor es el tamaño de las esporas y, dentro de cada nivel de ploidía, el tamaño de las esporas resultó un carácter diagnóstico para el reconocimiento de las especies.

En cuanto a su reproducción, todas las especies presentaron 64 esporas por esporangio y la mayoría de las configuraciones meióticas observadas fueron bivalentes, lo que sugiere que los *Polystichum* Australes serían alopoliploides con reproducción sexual normal. En el caso especial de *P. tetragonum* ($2n=4x$), microendemismo del Archiélago J. Fernández (Chile), el proceso de especiación habría ocurrido sin nuevos eventos de duplicación cromosómica ya que presenta el mismo nivel de ploidía que sus progenitores putativos del continente.

Se relevó la información citológica de los *Polystichum* de todo el mundo (116 especies), detectándose una gran variedad de niveles de ploidía en el género (2x, 3x, 4x, 6x, 8x), con un 58,46 % de poliploides. Ciertos grupos de *Polystichum* del hemisferio sur con vinculación gondwánica (incluyendo las de África, Australia, Nueva Zelanda y el grupo Austral) son exclusivamente poliploides; además, la ausencia de especies diploides, sugiere que son paleopoliploides derivados de antiguos eventos de poliploidización que produjeron su diversidad actual.

2. Variabilidad morfológica

Se ha definido un conjunto de caracteres morfo-anatómicos (cuali- y cuantitativos) que resultaron ser muy útiles para la identificación de las especies. Se destacan los que se proponen por primera vez: la posición y el tamaño de las pinnas basales, la disposición de los soros en el envés de la lámina, la presencia de espínulas en el margen foliar), la vascularización de los pecíolos y el tipo de indumento (pelos y escamas). Entre las variables cuantitativas, los caracteres más importantes se relacionan con el largo de las pinnas basales, el número de pares de pinnas y el número de pinnas soríferas, junto con los atributos morfo-anatómicos antes nombrados, constituyen el set de caracteres que mejor explican las diferencias entre las especies y fueron de utilidad para la construcción de la clave dicotómica.

3. Inferencias evolutivas

Se reporta por primera vez la monofilia de los *Polystichum* Australes y se presentan las relaciones filogenéticas con otros miembros del género de diferentes áreas geográficas del mundo. Las especies Australes, las de Australia y las de Nueva Zelanda también constituyen un grupo monofilético, siendo el clado de Australia el grupo hermano del clado Austral.

En el clado de *Polystichum* Australes, *P. andinum* ocupa una posición basal al resto de las especies, sugiriendo que fue el primer taxón en diferenciarse durante la diversificación de este grupo. Las demás especies se resuelven en dos linajes morfológicamente distinguibles: por un lado, *P. tetragonum*, *P. chilense* y *P. multifidum*, estas dos últimas fuertemente relacionadas y, por otro lado, el linaje integrado por *P. mohrioides*, *P. subintegerrimum* y *P. plicatum*. Finalmente, la filogenia molecular obtenida se condice con las siete especies tradicionalmente definidas para Chile y el sur de la Argentina.

La reconstrucción de estados ancestrales de caracteres morfológicos en los *Polystichum* Australes indicaría que el ancestro habría sido tetraploide, con lámina linear, márgenes foliares sin espínulas, pinnas basales perpendiculares al raquis y escamas del pecíolo sin cilios. Además, habría presentado los soros cubiertos por un indusio y carecería de bulbillos. *Polystichum* es un género muy lábil desde el punto de vista morfológico debido a la hibridación y la convergencia evolutiva, de manera que es difícil estimar tendencias evolutivas morfológicas generales en el linaje Austral, excepto por la reducción o pérdida de las espínulas del margen foliar. El ancestro hipotético del que habría divergido el clado que incluye a los *Polystichum* Australes, los de Nueva Zelanda y los de Australia también habría sido tetraploide, por lo que eventos antiguos de poliploidización estarían involucrados en la evolución de este linaje.

El probable ancestro común con las especies de Australia pudo habitar tanto este continente como el extremo sur de Sudamérica, donde con mayor probabilidad vivió el ancestro putativo de los *Polystichum* Australes. Precisamente en el extremo sur del continente habrían ocurrido los eventos de cladogénesis que originaron las especies de este grupo.

La vicarianza explicaría con la máxima probabilidad la distribución disyunta de los *Polystichum* Australes; sin embargo, si bien los resultados aquí presentados desestiman la dispersión a larga distancia, sería necesario contar con datos de tiempo de divergencia de los *Polystichum* Australes para descartar o no la migración post-gondwánica desde Australia al sur de Sudamérica.

Las diez especies de *Polystichum* que crecen en Argentina tendrían dos orígenes evolutivos diferentes. Tres de ellas pertenecen a los *Polystichum* exindusiados de los Andes (Norte y Centrales), linaje de especies neotropicales que divergieron de un ancestro del sur de Méjico. Las siete especies restantes (= *Polystichum* Australes), están vinculados filogenéticamente a Australasia.

Por otra parte, es interesante destacar el caso particular de *P. tetragonum*, endémica del Archipiélago J. Fernández. Si se tiene en cuenta la proximidad de este

sistema insular a Chile continental (ca. 670 Km) y su origen geológico reciente (ha emergido 4-2 Ma.), la explicación más parsimoniosa para la presencia de *P. tetragonum*, sería a través de la migración transoceánica de propágulos del ancestro putativo continental. Una explicación más compleja que involucrara dispersión a larga distancia a través del Océano Pacífico desde Australia (distante 8700 km) sería poco probable.

4. Delimitación de las especies de *Polystichum* Sudamericanas Australes

En este tratamiento taxonómico se delimitan siete especies apoyadas en los atributos morfológicos y/o el análisis filogenético molecular. Por otro lado, dada las características inherentes al grupo estudiado (alopoliploides, presencia de híbridos y amplia variabilidad morfológica) no se han hallado caracteres consistentes para mantener las variedades, consecuentemente éstas fueron sinonimizadas.

Desde el punto de vista nomenclatural, se realizaron tipificaciones para 12 binomios, habiéndose designado 11 lectotipos y un neotipo.

PROYECCIONES

A partir de este trabajo se han generado varias preguntas que se podrían resolver en futuras investigaciones. Por ejemplo, dado que los *Polystichum* australes son aloploiploides y además se han detectado dos híbridos, sería interesante identificar el número de linajes presentes en este grupo y dilucidar las relaciones entre estos linajes. Las relaciones reticuladas son frecuentes en *Polystichum* y podrían ser descifradas utilizando genes nucleares. Estudios filogenéticos en el grupo Austral de *Polystichum* utilizando el gen nuclear *pgiC* están en progreso.

Bibliografía

- Abraham A, Ninan CA & PM Mathew.** 1962. Studies on the cytology and phylogeny of the pteridophytes. VII. Observations on one hundred species of south Indian ferns. The Journal of the Indian Botanical Society 41: 339–421.
- Allan HH.** 1961. Flora of New Zealand Vol. I. Indigenous Tracheophyta. Government Printer, Wellington. New Zealand.
- Andrews SB.** 1990. Ferns of Queensland. A handbook to the ferns and fern allies. Queensland Dept. Primary Industries, Brisbane.
- Amarilla LD, Chiapella JO, Sosa V, Moreno NC & AM Anton.** 2015. A tale of North and South America: time and mode of dispersal of the amphitropical genus *Munroa* (Poaceae, Chloridoideae). Botanical Journal of the Linnean Society 179 (1): 110-125.
- Baeza M, Barrera E, Flores J, Ramírez C & RR Rodríguez.**1998. Categorías de conservación de Pteridophyta nativas de Chile. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Santiago de Chile. 47: 23–46.
- Barker MS & PG Wolf.** 2010. Unfurling fern biology in the genomics age. BioScience 60 (3): 177–185.
- Barrington DS.** 1985a. The morphology and origin of a new *Polystichum* hybrid from Costa Rica. Systematic Botany 10: 199–204.
- Barrington DS.** 1985b. The present evolutionary and taxonomic status of the fern genus *Polystichum*: the 1984 Botanical Society of America Pteridophyte, Section Symposium. American Fern Journal 75: 22–28.
- Barrington DS.** 1985c. Hybridization in Costa Rican *Polystichum*. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh 86B: 335–340.
- Barrington DS.** 1989. New species and combinations in tropical American *Polystichum* (Dryopteridaceae). Annals of the Missouri Botanical Garden 76: 365–373.

- Barrington DS.** 1990. Hybridization and allopolyploidy in Central American *Polystichum*: cytological and isozyme documentation. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 77: 297–305.
- Barrington DS.** 1995. *Polystichum*. In: Moran RC & R Riba. (eds. Pteridofitas), *Flora Mesoamericana* v.1, pp 218–225. Universidad Nacional Autónoma de México, México. Missouri Botanical Garden & The Natural History Museum, London.
- Barrington DS.** 2003. *Polystichum lilianae* sp. nov. (Dryopteridaceae) and its relationships to *P. fournieri* and *P. turrialbae*. *Brittonia* 55: 317–325.
- Barrington DS.** 2005. Helechos de los Páramos de Costa Rica. In: Kappelle M & SP Horn (eds.), *Páramos de Costa Rica*, pp 375–395. Editorial INBio Universidad de Costa Rica San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica.
- Barrington DS.** 2006. Cytological information for the genus *Polystichum*. (University of Vermont, Burlington, VT), disponible en <http://www.uvm.edu/~dbarring/polycytology.pdf>.
- Barrington DS.** 2011. The Fern Genus *Polystichum* (Dryopteridaceae) in Costa Rica. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 98: 431–446.
- Barrington DS, Haufler CH & RW Charles.** 1989. Hybridization, reticulation and species concepts in the ferns. *American Fern Journal* 79 (2): 5564.
- Barrington DS & HE Driscoll.** 2005. Minisymposium on the fern genus *Polystichum*. (British Pteridological Society, Kew: London) Available at <http://www.uvm.edu/~dbarring/kewposter.pdf>.
- Barrington DS, París CA & TA Ranker.** 1986. Systematic inferences from spore and stomata size in the ferns. *American Fern Journal* 76: 149–159.
- Baum DA.** 2009. Species as ranked taxa. *Systematic Biology* 58: 74–86.
- Baum DA, Small RL & JF Wendel.** 1998. Biogeography and floral evolution of Baobabs (*Adansonia*, Bombacaceae) as inferred from multiple data sets. *Systematic Biology* 47: 181–207.

Bennett MD & IJ Leitch. 2001. Nuclear DNA amounts in pteridophytes. *Annals of Botany* 87: 335–345.

Bennett MD & IJ Leitch. 2011. Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. *Annals of Botany* 107: 467–590.

Bir SS. 1973. Cytology of Indian Pteridophytes. In: Nair PKK, Grover RK & TM Verghese (eds.) *Glimpses Pl. Res.* v 1, 28–119 pp. Vikas Publishing House, New Delhi.

Britton DM. 1953. Chromosome studies on ferns. *American Journal of Botany* 40: 575–583.

Britton DM. 1964. Chromosome numbers of ferns in Ontario. *Canadian Journal of Botany* 42: 1349–1354.

Brownsey PJ. 1985. Biosystematics of the cryptogamic flora of New Zealand: Pteridophytes. *New Zealand Journal of Botany* 23: 681–685.

Brownsey PJ. 2001. New Zealand's Pteridophyte flora – plants of ancient lineage but recent arrival? *Brittonia* 53: 284–303.

Brownsey PJ & JC Smith-Dodsworth. 2000. *New Zealand ferns and allied plants.* Auckland, David Bateman Ltd.

Buarque AI, Carneiro ML & M Guerra. 2003. Cariologia de algumas espécies de pteridófitas ocorrentes no nordeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 17 (1): 19–26.

Buckland PC & PM Hammond. 1997. The origins of the biota of the Falkland Islands and South Georgia. *Quaternary Proceedings* 5: 59–69.

Buckley TR, Arensburger P, Simon C & GK Chambers. 2002. Combined data, Bayesian phylogenetics, and the origin of the New Zealand Cicada genera. *Systematic Biology* 51: 4–18.

Carr GD. 1998. Chromosome evolution and speciation in Hawaiian flowering plants. In: Stuessy TF & M Ono (eds.), *Evolution and speciation of island plants*, pp. 5–47. Cambridge University Press, Cambridge.

- Chandra P.** 1977. Epidermal studies in some species of *Polystichum* Roth. *New Botanist* 4: 101–107.
- Chandra P & Bk Nayar.** 1982. Morphology of some polystichoid ferns. II. The sporophyte of *Arachniodes*, *Cyrtomium* and *Polystichum*. *Journal of the Indian Botanical Society* 61: 391–403.
- Chase MW & JL Reveal.** 2009. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 122–127.
- Christ H.** 1893. Les différentes formes de *Polystichum aculeatum* (L. sub Polypodio), leur groupement et leur dispersion y compris les variétés exotiques. *Berichte der Schweizerischen botanischen Gesellschaft* 3: 26–46.
- Christ H.** 1905. Über die australen *Polystichum*-Arten. *Arkiv för Botanik* 4 (12): 1–5.
- Christenhusz MJM & MW Chase.** 2014. Trends and concepts in fern classification. *Annals of Botany* 113: 571–594.
- Christenhusz MJM, Zhang X-C & H Schneider.** 2011. A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns. *Phytotaxa* 19: 7–54.
- Christensen C.** 1906. *Index Filicum*. Hagerup, Copenhagen.
- Christensen C.** 1910. On some species of ferns collected by Dr. Carl Skottsberg in temperate South America. *Arkiv för Botanik* 10 (2): 1–32.
- Cifuentes M, Grandont L, Moore G, Chèvre AM & E Jenczewski.** 2010. Genetic regulation of meiosis in polyploid species: new insights into an old question. *New Phytology* 186: 29–36.
- Comai L.** 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics*. 89: 836–846.
- Condack JPS.** 2012. Filogenia de *Polystichum* (Dryopteridaceae) e revisão taxonômica das espécies ocorrentes no Brasil. PhD thesis. Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Condack JPS, Barrington DS & L Sylvestre. 2010. Phylogeny and biogeography of *Polystichum* Roth. (Dryopteridaceae) with emphasis on the species occurring at the Brazilian center of diversity'. Botany 2010 conference, Providence, RI. Available at <http://2010.botanyconference.org/engine/search/index.php?func=detailandaid=1120>.

Condack JPS, McHenry MA, Morero RE, Sylvestre LS & DS Barrington. 2013. *Polystichum montevidense* demystified: molecular and morphologic data reveal a cohesive, widespread South American species. American Fern Journal 103 (2): 118–130.

Cooper A, Lalueza-Fox C, Anderson S, Rambaut A, Austin J & R Ward. 2001. Complete mitochondrial genome sequences of two extinct Moas clarify ratite evolution. Nature 409: 704–707.

Cracraft J. 2001. Avian evolution, Gondwana biogeography and the Cretaceous–Tertiary mass extinction event. Proceedings of the Royal Society of London B 268: 459–469.

Crane FW. 1953. Spore studies in *Dryopteris*, I. American Fern Journal 43: 159–169.

Crawford DJ, Sang T, Stuessy TF, Kim S-C & M Silva. 1998. *Dendroseris* (Asteraceae: Lactuceae) and *Robinsonia* (Asteraceae: Senecioneae) on the Juan Fernández Islands: similarities and differences in biology and phylogeny. In Stuessy TF & M Ono (eds.), Evolution and speciation of island plants. pp. 97–119. Cambridge University Press: Cambridge, UK.

Crawford DJ, Stuessy TF, Cosner MB, Haines DW, Silva M & M Baeza. 1992. Evolution of the genus *Dendroseris* (Asteraceae, Lactuceae) on the Juan Fernandez Islands: evidence from chloroplast and ribosomal DNA. Systematic Botany 17: 676–682.

Crisci JV, Cigliano MM, Morrone JJ & S Roig-Juñent. 1991. Historical biogeography of southern South America. Systematic Zoology 40 (2): 152–171.

Cubas P. 1990. Procesos citogenéticos de especiación en Pteridophyta. Anales del Jardín Botánico de Madrid 46(2): 519–531.

- Daigobo, S.** 1972. Taxonomical studies on the fern genus *Polystichum* in Japan, Ryukyu, and Taiwan. Science Reports of the Tokyo Bunrika Daigaku, Sect. B. 15 (224): 57–80.
- Daigobo S.** 1974. Chromosome numbers of the fern genus *Polystichum* (2). Journal of Japanese Botany 49: 371–378.
- Dalziel IWD, Dott RH Jr., Winn RD & RL Bruhn.** 1975. Tectonic relations of South Georgia to the southernmost Andes. Geol. Soc. Am. Bull. 86: 1034-1040.
- D'Ambrogio de Argüeso A.** 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Hemisferio Sur. S.A. Buenos Aires.
- Dart S, Kron P & BK Mable.** 2004. Characterizing polyploidy in *Arabidopsis lyrata* using chromosome counts and flow cytometry. Canadian Journal of Botany 82: 185–197.
- Diels FL.** 1899. Contributed to EP. Die Natürlichen Pflanzenfamilien. [Engler & Prantl] 1: 192.
- Di Rienzo JA, Balzarini MG, González L, Tablada M, Guzmán W, Robledo CW & F Casanoves.** 2002. Software InfoStat versión 1.1. (Grupo InfoStat, F. Cs. Agrarias, Universidad Nacional de Córdoba: Argentina) Available at <http://www.infostat.com.ar>.
- Diem J.** 1943. Flora del Parque Nacional Nahuel Huapi I: Helechos y demás criptógamas vasculares, pp1-117. Plantié, Buenos Aires.
- Diem J.** 1958. Observaciones sobre *Polystichum mohrioides* var. *plicatum* (Poepp.) C. Chr., Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 7 (2): 94–98.
- Diem J.** 1960. Pteridófitas nuevas del Parque Nacional de Nahuel-Huapi (Argentina). Darwiniana 12 (1): 67–74.
- Dimitrova D & J. Greilhuber.** 2000. Karyotype and DNA-content evolution in ten species of *Crepis* (Asteraceae) distributed in Bulgaria. Botanical Journal of the Linnean Society 132: 281–297.
- Dizeo de Strittmater C.** 1973. Nueva técnica de diafanización. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 15 (1): 126–129.

- Doyle JJ & JL Doyle.** 1987. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin of the Botanical Society of America* 19: 11–15 .
- Driscoll HE & DS Barrington.** 2007. Origin of Hawaiian *Polystichum* (Dryopteridaceae) in the context of a world phylogeny. *American Journal of Botany* 94 (8): 1413–1424.
- Drummond A, Ashton B, Buxton S, Cheung M, Cooper A, Duran C, Field M et al.** 2007. Geneious version 5. 4. Website <http://www.geneious.com/>.
- Dumont-d'Urville MJ.** 1825. *Flore des Malouines*, pp 1–56. De Lebel. Paris.
- Duperrey MLI.** 1828. *Voyage autour du monde*. v.1, pp 1-301, Arthus Bertrand, Libraire-Éditeur, Paris.
- Edgan AN & KA Crandall.** 2008. Incorporating gaps as phylogenetic characters across eight DNA regions: Ramifications for North American *Psoraleae*. (Leguminosae). *Molecular, Phylogenetics and Evolution* 46 (2): 532–546.
- Edgar R.** 2004. MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics* 5: 113.
- Eizirik E, Murphy WJ & SJ O'Brien.** 2001. Molecular dating and biogeography of the early placental mammal radiation. *Journal of Heredity* 92: 212–219.
- Fahn A.** 1990. *Plant Anatomy*, pp 1-588. Pergamon Press
- Farris J, Källersjö M, Kluge AG & C. Bult.** 1994. Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10: 315–319.
- Fée ALA.** 1869. *Cryptogames Vasculaires (Fougères, Lycopodiacees, Hydroptéridées, Équisétacées) du Brésil v. 1*. Pp 1–269 + lxxviii, Veuve Berger–Levrault & Fils, Paris.
- Fée ALA.** 1873. *Cryptogames Vasculaires (Fougères, Lycopodiacees, Hydroptéridées, Équisétacées) du Brésil v. 2*, pp 1–115 + xxx, Supplément et révision. Berger–Levrault & Cia, Paris.
- Fernald ML.** 1924. *Polystichum mohrioides* and some other Subantarctic or Andean plants in the Northern Hemisphere. *Rhodora* 26: 89–5.

- Fontana SL, Bianchi MM & KD Bennett.** 2012. Palaeoenvironmental changes since the Last Glacial Maximum: Patterns, timing and dynamics throughout South America. *The Holocene* 22 (11): 1203–1206.
- Fraser-Jenkins CR.** 1997. *Himalayan Ferns (A Guide to Polystichum)*. International Booksellers, Dehra Dun, India.
- Garnatje T, Valles J, Garcia S, Hidalgo O, Sanz M, Canela MA & SSiljak-Yakovlev.** 2004. Genome size in *Echinops* L. and related genera (Asteraceae, Cardueae): karyological, ecological and phylogenetic implications. *Biology of the Cell* 96: 117–124.
- Gastony GJ.** 1991. Gene silencing in a polyploid homosporous fern: paleopolyploidy revisited. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 88: 1602–1605.
- Ghatak J.** 1977. Biosystematic survey of pteridophytes from Shevaroy Hills, south India. *Nucleus (Calcutta)* 20: 105–108.
- Gifford EM & AS Foster.** 1989. *Morphology and evolution of Vascular Plants*. WH Freeman & Company, New York.
- Goloboff PA, Farris JS & KC Nixon.** 2008. TNT a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774–786.
- Gledhill D.** 2002. *The names of plants*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Goldblatt P & DE Johnson.** 1979-2010. *Index to plant chromosome numbers*. Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- Graçano D, Alves-Azevedo A & J Prado.** 2001. Anatomia foliar das espécies de Pteridaceae do Parque Estadual do Rio Doce (PERD) MG. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 333–347.
- Grant V.** 1981. *Plant Speciation*. New York: Columbia University Press.
- Guerra M.** 2000. Chromosome number variation and evolution in Monocots. In: Wilson KL & DA Morrison (eds.), *Monocots: systematics and evolution*, pp. 127–136. CSIRO, Melbourne.

Guerra M. 2008. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. *Cytogenetic and Genome Research* 120 (3–4): 339–350.

Guillén RH & JR Daviña 2005. Chromosome studies in species of *Asplenium* (Aspleniaceae) from Argentina. *Darwiniana* 43: 44–51.

Hasebe M, Wolf PG, Pryer KM, Ueda K, Ryosuke Sano MI, Gastony GJ, Yokoyama J, Manhart JR, Murakami N, Crane EH, Haufler CH & WD Hauk. 1995. Fern Phylogeny based on *rbcL* nucleotide sequence. *American Fern Journal* 85 (4): 134–181.

Haufler CH. 2002. Homospory 2002: An Odyssey of Progress in Pteridophyte Genetics and Evolutionary Biology. *BioScience* 52 (12): 1081–1093.

Haufler CH & DE Soltis. 1986. Genetic evidence indicates that homosporous ferns with high chromosome numbers may be diploid. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 83: 4389–4393.

Hauk WD, Parks CR & MW Chase. 2003. Phylogenetic studies of Ophioglossaceae: evidence from *rbcL* and *trnL-F* plastid DNA sequences and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 28 (1): 131–151.

Hemsley WB. 1885. Report on the Scientific results Voyage of H.M.S. Challenger, Botany. v. 1. Magestys Stationary Office. London.

Hennequin S, Ebihara A, Ito M, Iwatsuki K & J-Y Dubuisson. 2006a. Phylogenetic systematics and evolution of the genus *Hymenophyllum* (Hymenophyllaceae: Pteridophyta). *The Fern Gazette* 17: 247–257.

Hernández V, Terrazas T & G Angeles. 2006. Anatomía de seis especies de helechos del género *Dryopteris* (Dryopteridaceae) de México. *Revista de Biología Tropical* 54 (4): 1157–1169.

Hernández-Hernández V, Terrazas T, Mehlreter K & G Angeles. 2012. Studies of petiolar anatomy in ferns: structural diversity and systematic significance of the circumendodermal band. *Botanical Journal of the Linnean Society* 169: 596–610.

- Hicken CM.** 1906. Observations sur quelques fougères argentines, nouvelles ou peu connues. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 62: 161–176.
- Hicken CM.** 1907a. Nouvelles contributions aux Fougères Argentines. *Trabajos del Museo de Farmacología de Facultad de Ciencias Médicas* 19: 1–12.
- Hicken CM.** 1907b. Quelques Fougères Argentines. Nouvelles ou peu connues. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 63: 161–176.
- Hicken CM.** 1909. Clave artificial de las Aspídeas argentinas. *Apuntes de Historia Natural* 1 (10–11): 145–154.
- Hijmans RJ, Guarino L, Bussink C, Mathur P, Cruz M, Barrentes I, Rojas E.** 2004. DIVA-GIS. V 5. A geographic information system for the analysis of species distribution data. Available at <http://www.divagis.org>
- Hipp AL, Hall JC & KJ Sytsma.** 2004. Congruence versus phylogenetic accuracy: revisiting the incongruence length difference test. *Systematic Biology* 53(1): 81–89.
- Holttum RE.** 1971. Studies in the family Thelypteridaceae, III. A new system of genera in the Old World. *Blumea* 19: 17–52.
- Hooker WJ.** 1862. *Species Filicum*, v. 4. W. Pamplin, London.
- Hosseus CC** 1915. La vegetación del Lago Nahuel Huapí y sus montañas. *Trabajos del Instituto de Botánica y Farmacología* 33: 3–102.
- Ivanova D & H Piekos-Mirkowa.** 2003. Chromosome numbers of Polish ferns. *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica* 45: 93–99.
- Jara-Seguel P, Romero-Mieres M & C Palma-Rojas.** 2006. Chromosome numbers of Chilean pteridophytes: first contribution. *Gayana Botánica* 63: 115–118.
- Johansen DA.** 1940. *Plant Microtechnique*. Ed. Mc. Graw Hill Book Co. New York.
- Johow F.** 1896. Estudio sobre la Flora de las Islas de Juan Fernández. *Anales Universidad de Chile*, v. 94, 288 pp.

- Kato M & N Nakato.** 1999. A cytotaxonomic study of Hainan (S China) pteridophytes with notes on polyploidy and apogamy of Chinese species. In Zhang X-C & K-H Shing (eds.), *Ching Memorial v.*, pp. 1–19. Chinese Forestry Publishing House: Beijing.
- Kawakami S.** 1982. Karyomorphological studies on Japanese Pteridaceae. IV. Discussion. *Bulletin of Aichi University of Education, Natural Science* 31: 175–186.
- Kessler M, Smith AR & M Sundue.** 2005. Notes on the genus *Polystichum* (Dryopteridaceae) in Bolivia, with descriptions of ten new species. *Brittonia* 57 (3): 205–227.
- Khullar SP & SC Gupta.** 1979. Morphological studies of some Himalayan *Polystichums*. *Nova Hedwigia Beiheft* 63 (2): 41–58.
- Khullar SP, Sharma SS & SCVerma.** 1988. SOCGI Plant chromosome number reports –VI. *Journal of Cytology and Genetics* 23: 38–52.
- Klekowski EJ.** 1973. Sexual and subsexual systems in homosporous pteridophytes: a new hypothesis. *American Journal of Botany* 60: 535–544.
- Klekowski EJ Jr & HG Baker.** 1966. Evolutionary Significance of Polyploidy in the Pteridophyta. *Science* 153 (3733): 305–307.
- Kondo T.** 1962. A contribution to the study of fern stomata (II) with special reference to their structure and development. *Research Bulletin of the Faculty of Education of Shizuoka University* 13: 239–261.
- Kramer KU & PS Green.** 1990. Pteridophytes and Gymnosperms. In Kubitzki K. (ed.). *The families and genera of vascular plants, vol 1*, pp 1–404. Berlin: Springer-Verlag.
- Kunze G.** 1834. *Synopsis plantarum Cryptogamicarum ab Ed. Poeppig in Cuba insula et in America meridionali collectarum.* *Linnaea* 9: 1–111.
- Kuriachan PI.** 1979. Interspecific origin of *Salvinia molesta* Mitchell: evidence from karyotype. *Indian Journal of Botany* 2: 51–54.
- Kuriachan PI.** 1994. Karyotype of *Regnellidium diphyllum* Lindm. *Caryologia* 47: 311–314.

- Kurita S.** 1966. Chromosome numbers of some Japanese ferns (5). *Journal of Japanese Botany* 41: 82–84.
- Leitch IJ & MD Bennett.** 2004. Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of the Linnean Society of London* 82: 651–663.
- Leitch IJ, Soltis DE, Soltis PS & MD Bennett.** 2005. Evolution of DNA amounts across land plants (Embryophyta). *Annals of Botany* 95: 207–217.
- Lellinger DB.** 2002. A modern multilingual glossary of taxonomic Pteridology. *Pteridologia* 2: 1–263.
- Le Péchon T, He H, Zhang L, Zhou X-M, Gao X-F & L-B Zhang.** 2016a. Using a multilocus phylogeny to test morphology-based classifications of *Polystichum* (Dryopteridaceae), one of the largest fern genera. *BMC Evolutionary Biology* 16: 55.
- Le Péchon T, Zhang L, He H, Zhou X-M, Bytebier B, Gao X-F & L-B Zhang.** 2016b. A well-sampled phylogenetic analysis of the polystichoid ferns (Dryopteridaceae) suggests a complex biogeographical history involving both boreotropical migrations and recent transoceanic dispersals. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 98: 324–336.
- Levin DA.** 2002. The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford University Press: New York.
- Lehtonen S, Tuomisto H, Rouhan G & MJM Christenhusz.** 2010. Phylogenetics and classification of the pantropical fern family Lindsaeaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 163: 305–359.
- Li C-S, Lu S-G & Q Yang.** 2004. Asian origin for *Polystichum* (Dryopteridaceae) based on *rbcl* sequences. *Chinese Science Bulletin* 49 (11): 1146–1150.
- Li C-X & S-G Lu.** 2006a. Phylogenetics of Chinese *Dryopteris* (Dryopteridaceae) based on the chloroplast *rps4-trnS* sequence data. *Journal of Plant Research* 119: 589–598.
- Li C-X & S-G Lu.** 2006b. Phylogenetic analysis of Dryopteridaceae based on chloroplast *rbcl* sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 44: 503–515.

- Li C-X, Lu S-G & Q Yang.** 2007. Phylogeny and biogeography of Chinese and Australasian *Polystichum* ferns as inferred from chloroplast *trnL-F* and *rps4-trnS* sequence data. *Palaeoworld* 16: 294–300.
- Li C-X, Lu S-G & DS Barrington.** 2008. Phylogeny of Chinese *Polystichum* (Dryopteridaceae) based on chloroplast DNA sequence data (*trnL-F* and *rps4-trnS*). *Journal of Plant Research* 121: 19–26.
- Libor E, Trávníček P, Jarolímová V, Vít P & T Urfus.** 2009. Genome size and morphology of the *Dryopteris affinis* group in Central Europe. *Preslia* 81: 261–280.
- Lin B-L & CE DeVol.** 1977. The use of stipe characters in fern taxonomy I. *Taiwania* 22: 91–99.
- Lin B-L & CE DeVol.** 1978. The use of stipe characters in fern taxonomy II. *Taiwania* 23: 77–95.
- Lin S-J, Ebihara A, Wang D & K Iwatsuki.** 2011. Systematic Studies of *Polystichum* (Dryopteridaceae) in Japan (I): *P. fibrillosopaleaceum* var. *marginale* is a diploid hybrid between *P. fibrillosopaleaceum* and *P. igaense*. *American Fern Journal* 101 (4): 295–306.
- Little DP & DS Barrington.** 2003. Major evolutionary events in the origin and diversification of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany* 90: 508–514.
- Liu H-M, He L-J & H Schneider.** 2014. Towards the natural classification of Tectarioid ferns: confirming the phylogenetic relationships of *Pleocnemia* and *Pteridrys* (Eupolypods I) *Journal of Systematics and Evolution* 52: 161–174.
- Liu H-M, Zhang X-C, Wang W, Qiu Y-L & Z-D Chen.** 2007. Molecular Phylogeny of the fern family Dryopteridaceae inferred from chloroplast *rbcl* and *atpb* genes. *International Research Journal of Plant Science* 168 (9): 1311–1323.
- Löytynoja A & N Goldman.** 2008. Phylogeny-aware gap placement prevents errors in sequence alignment and evolutionary analysis. *Science* 320: 1632–1635.

- Löytynoja A & N Goldman.** 2005. An algorithm for progressive multiple alignment of sequences with insertions. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 102 (30): 10557-10562.
- Looser G.** 1939. Las Pteridofitas del Parque Nacional de Nahuel Huapi. *Physis* 15: 213–246.
- Looser G.** 1945. Lista provisional de las Pteridófitas (Helechos) de la Provincia de Coquimbo (Chile). *Lilloa* 11: 55–73.
- Looser G.** 1958. Los helechos de la Isla de Pascua. *Revista Universitaria, Santiago* 43: 39–64.
- Looser G.** 1968. Los helechos del género *Polystichum* Roth en Chile. Notas preliminares. *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 1: 49–58.
- Löve A, Löve D & REG Pichi Sermolli.** 1977. *Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta*. v. 3. Vadoz, J Cramer. Germany.
- Lovis JD.** 1977. Evolutionary patterns and processes in ferns. *Advances in Botanical Research* 4: 229–415.
- Lu J-M, Barrington D-S & D-Z Li.** 2007. Molecular phylogeny of the Polystichoid ferns in Asia based on *rbcl* sequences. *Systematic Botany* 32: 26–34.
- Lu J-M, Li D-Z, Gao L, Cheng X & D Wu.** 2005. Paraphyly of *Cyrtomium* (Dryopteridaceae): evidence from *rbcl* y *tmL-F* sequence data. *Journal of Plant Research* 118: 129–135.
- Lu J-M, Li D-Z & D Wu.** 2006a. Chromosome numbers of four genera in the Dryopteridaceae. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 44: 516–522.
- Lu J-M & X Cheng.** 2003. Chromosome numbers of 10 species of *Cyrtomium* (Dryopteridaceae). *Acta Botanica Yunnanica* 25: 663–670.
- Lu J-M, Cheng X, Wuand D & D-Z Li.** 2006b. Chromosome study of the fern genus *Cyrtomium* (Dryopteridaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 150: 221–228.
- Mahabale TS & SY Kamble 1981.** Cytology of ferns and other pteridophytes of western India. *Proceedings of the National Academy of Sciences B*. 47: 260–278.

- Mangeaud A.** 2004. La aplicación de Técnicas de Ordenación Multivariadas. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 63 (3–4): 1–10.
- Maddison WP & DR Maddison.** 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, version 2.75. Available at: <http://mesquiteproject.org>
- Manos PS.** 1997. Systematics of *Nothofagus* (Nothofagaceae) based on rDNA spacer sequences (ITS): Taxonomic congruence with morphology and plastid sequences. American Journal of Botany 84: 1137–1155.
- Manton I.** 1950. Problems of cytology and evolution in the Pteridophyta. Cambridge University Press: Cambridge.
- Mantoni.** 1954. Cytological notes on one hundred species of Malayan ferns. Appendix to Holttum's Flora of Malaya, Vol. II: Ferns. Govt Press, Siangapore.
- Manton I.** 1959. Cytological information on the ferns of West Tropical Africa. In Alston AHG (ed.), Ferns and Ferns-allies of West Tropical Africa. London.
- Mantoni & WA Sledge.** 1954. Observations on the cytology and taxonomy of the Pteridophyte flora of Ceylon. Philosophical Transactions of the Royal Society 238B: 127–185.
- Marcon AB, Barros ICL & M Guerra.** 2003a. Cariologia de algumas espécies de pteridófitas ocorrentes no nordeste do Brasil. Acta botânica Brasilica 17: 19–26.
- Marcon AB, Barros ICL & M Guerra.** 2003b. A karyotype comparison between two closely related *Acrostichum* L. (Pteridaceae) species. American Fern Journal 93: 116–125.
- Marcon AB, Barros ICL & M Guerra.** 2005. Variation in Chromosome Numbers, CMA Bands and 45S rDNA Sites in Species of *Selaginella* (Pteridophyta). Annals of Botany 95 (2): 271–276.
- Marshall JEA.** 1994. The Falkland Islands: a key element in Gondwana paleogeography. Tectonics 13: 499–514.

Martcorena C&RR Rodríguez. 1995. Flora de Chile, v. 1. Pteridophyta-Gymnospermae. Universidad de Concepción, Concepción.

Maxon WR.1909. A revision of the West Indian species of *Polystichum* Studies in Tropical American Ferns 2. Contributions from the United States National Herbarium 13: 25–38

Maxon WR. 1912. Further notes on the West Indian species of *Polystichum*. Contributions from the United States National Herbarium 16: 49–51.

McCarthy PM & AE Orchard. 1998. *Polystichum*. In Ferns, Gymnosperms and Allied Groups. Flora of Australia, v. 48. ABRIS/CSIRO, Canberra.

McDowall RM. 2005. Falkland Islands biogeography: converging trajectories in the South Atlantic Ocean. Journal of Biogeography 32:49–62.

McGlone MS, Duncan RP & PB Heenan. 2001. Endemism, species selection and the origin and distribution of the vascular plant flora of New Zealand. Journal of Biogeography 28: 199–216.

McHenry MA & DS Barrington. 2014. Phylogeny and biogeography of exindusiate Andean *Polystichum* (Dryopteridaceae). American Journal of Botany 101: 365–375.

McLoughlinS. 2001 The breakup history of Gondwana and its impact on pre-Cenozoic floristic provincialism. Australian Journal of Botany 49: 271–300.

McNeill J, Barrie FR, Buck WR, Demoulin V, Greuter W, Hawksworth DL, Herendeen PS, Knapp S, Marhold K, Prado J, Prud'homme Van Reine WF (eds). 2012. International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plants (Melbourne Code): Adopted by the Eighteenth International Botanical Congress Melbourne, Australia, July 2011 (Regnum Vegetabile 154). Taunus, Koeltz Scientific Books, 240 pp. <http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php>

Medina FJ, Solanilla EL, Sánchez-Pina MA, Fernández-Gómez ME & MC Risueño. 1986. Cytological approach to the nucleolar functions detected by silver-staining. Chromosoma 94: 259–266.

- Mehra PN & SL Soni.** 1983. Stomatal patterns in Pteridophytes-An evolutionary approach. Proceedings of the Indian National Science Academy: Biological sciences 49 (2): 155–203.
- Mettenius G.** 1856. Filices Lechlerianae Chilenses ac Peruanae. Leopold Voss. Lipsiae
- Mickel JT & AR Smith.** 2004. Pteridophytes of Mexico. Journal of the New York Botanical Garden 88: 1-1055.
- Mitchell KJ, Llamas B, Soubrier J, Rawlence NJ, Worthy TH, Wood J, Lee MSY & A. Cooper.** 2014. Ancient DNA reveals elephant birds and kiwi are sister taxa and clarifies ratite bird evolution. Science 344 (6186): 898–900.
- Mitui K.** 1965. Chromosome studies on Japanese ferns (1). The Journal of Japanese Botany 40: 117–124.
- Mitui K.** 1966. Chromosome studies on Japanese ferns (2). The Journal of Japanese Botany 41:60–64.
- Miyamoto F & T Nakamura.** 1983. Three new hybrids of *Polystichum* from Taiwan. Journal of Japanese Botany 58: 146–150.
- Moran RC.** 1987. Monograph of the Neotropical Fern Genus *Polybotrya* (Dryopteridaceae). Illinois Natural History Survey Bulletin 34 (1): 1–138.
- Moran RC, Hanks JG, Labiak P & M Sundue.** 2010a. Perispore morphology of bolbitidoid ferns (Dryopteridaceae) in relation to phylogeny. International Journal of Plant Sciences 171 (8): 872–881.
- Moran RC, Hanks JG & G Rouhan.** 2007. Spore morphology in relation to phylogeny in the fern genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae). International Journal of Plant Sciences 168 (6): 905–929.
- Moran RC, Labiak PH & M Sundue.** 2010b. Phylogeny and character evolution of the bolbitidoid ferns (Dryopteridaceae). International Journal of Plant Sciences. 171 (8): 547–559.

- Morbelli MA.** 1980. Morfología de las esporas de Pteridophyta presentes en la región Fuego-Patagónica República Argentina. *Opera lilloana* 28: 1–138.
- Morejón Hernández R & C Sánchez.** 2012. Novelty in the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae) I. Three new taxa for Cuba. *Willdenowia* 42 (2): 273–281.
- Morejón Hernández R & C Sánchez.** 2013. Novelty in the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae) II. New records, new combinations and other new statuses for Cuba. *Novitiae Florae Cubensis* 44: 325–330.
- Morero R, Chiarini F, Barboza GE, Urdampilleta J & DS Barrington.** 2015. Cytological study of *Polystichum* (Dryopteridaceae) species from southern South America. *Australian Journal of Botany* 63 (5): 403–414.
- Morero RE, Barrington DS, McHenry MA, Condack JPS & GE Barboza.** 2016. Typifications and synonymy in *Polystichum* (Dryopteridaceae) from Chile and Argentina. *PhytoKeys* 65: 91–105
- Morrone JJ & P Posadas.** 2005. Falklands: facts and fiction. *Journal of Biogeography* 32:2183–2187.
- Morrone JJ.** 2011. Island evolutionary biogeography: Analysis of the weevils (Coleoptera: Curculionidae) of the Falkland Islands (Islas Malvinas). *Journal of Biogeography* 38(11): 2078–2090.
- Morton CV.** 1967. Studies of fern types. I. Contributions from the United States National Herbarium 38: 29–83.
- Nagl W & F Ehrendorfer.** 1974. DNA content, heterochromatin, mitotic index and growth in perennial and annual Anthemideae (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 123: 35–54.
- Nixon KC & QD Wheeler.** 1990. An amplification of the phylogenetic species concept. *Cladistics* 6: 211–233.

Ogura Y. 1972. Comparative anatomy of vegetative organs of the Pteridophytes. In: Linsbauer K, Tischler G & A Pascher (eds.), *Encyclopedia of Plant Anatomy*, v. 7, pp. 1-502. Gebrüder Borntraeger, Berlin.

Otto S P. 2007. The evolutionary consequences of polyploidy. *Cell* 131: 452–462.

Ozkan H, Tuna M & K Arumuganathan. 2003. Non additive changes in genome size during allopolyploidization in the wheat (*Aegilops–Triticum*) group. *The Journal of Heredity* 94: 260–264.

Patnaik SN & G Panigrahi. 1963. Cytology of some genera of Polypodiaceae in Eastern India II. *American Fern Journal* 53: 40–46.

Pellow B, Henwood M & R Carolin. 2009. *The Flora of the Sydney Region*. Sydney University Press, Sydney.

Perrie LR, Lockhart PJ, Brownsey PJ & MF Large. 2000. Morphological and molecular concordance for the recognition of two species in the New Zealand *Polystichum richardii* (Hook.) J. Smith complex. *Plant Systematics & Evolution* 224: 97–107.

Perrie LR, Brownsey PJ, Lockhart PJ & MF Large. 2003a. Evidence for an allopolyploid complex in New Zealand *Polystichum* (Dryopteridaceae). *New Zealand Journal of Botany* 41: 189–215.

Perrie LR, Brownsey PJ, Lockhart PJ, Brown EA & MF Large. 2003b. Biogeography of temperate Australasian *Polystichum* ferns as inferred from chloroplast sequence and AFLP. *Journal of Biogeography* 30: 1729–1736.

Pichi-Sermolli REG. 1977. Tentamen pteridophytorum genera in taxonomicum ordinem redigendi. *Webbia* 31: 313–512.

Pichi-Sermolli REG & MP Bizzarri. 1978. The botanical collections (Pteridophyta and Spermatophyta) of the AMF Mares-G.R.S.T.S. Expedition to Patagonia, Tierra del Fuego and Antarctica. *Webbia* 32: 455–534.

- Pittermann J, Watkins JE, Cary KL, Schuettpelz E, Brodersen C, Smith AR & A Baer.** 2015. The structure and function of xylem in seed free vascular plants: an evolutionary perspective. In Hacke U (ed.), *Functional and Ecological Xylem Anatomy*, 1–35 pp. Springer International Publishing. Switzerland.
- Ponce MM, Mehltreter K & ER de la Sota.** 2002. Análisis biogeográfico de la diversidad pteridofítica en Argentina y Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 703–717.
- Ponce MM & A Salino.** 2008. Dryopteridaceae. In Zuloaga FO & O Morrone (eds.), *Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, (I)*. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 107: 33–49.
- Popp M, Mirré V & C. Brochmann.** 2011. A single mid-Pleistocene long-distance dispersal by a bird can explain the extreme bipolar disjunction in crowberries (*Empetrum*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:6520–6525.
- Posada D.** 2008. jModel Test: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253–1256.
- Premoli A.** 1997. Genetic variation in a geographically restricted and two widespread species of South American *Nothofagus*. *Journal of Biogeography* 24 (6): 883–892.
- Presl CB.** 1836. *Tentamen pteridographiae, seu, genera filicacearum praesertim juxta venarum decursum et distributionem exposita*. T. Haase. Pragae.
- Pryer KM, Schneider H, Smith AR, Cranfill R, Wolf PG, Hunt JS & SD Sipes.** 2001. Horsetails and ferns are a monophyletic group and the closest living relatives to seed plants. *Nature* 409: 618–622.
- Pryer KM, Schuettpelz E, Wolf PG, Schneider H, Smith AR & R Cranfill.** 2004. Phylogeny and evolution of ferns (Monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences. *American Journal of Botany* 91: 1582–1598.

- Pryer KM, Smith AR & JE Skog.** 1995. Phylogenetic relationships of extant pteridophytes based on evidence from morphology and *rbcL* sequences. *American Fern Journal* 85: 205–282.
- Quintanilla LG & A Escudero.** 2006. Spore fitness Components do not differ between diploid and allotetraploid species of *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *Annals of Botany* 98: 609–618.
- Ramsey J & DW Schemske.** 2002. Neopolyploidy in flowering plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 33: 589–639.
- Rasband WS.** 2014. ImageJ (US National Institutes of Health: Bethesda, MD) Available at <http://imagej.nih.gov/ij/>.
- Rémy J.** 1854. Helechos. In: Gay C, *Historia Física y Política de Chile. Botánica. v. 6*, pp 473–549. Fain et Thunot, Paris.
- Ricci M.** 2006. Conservation status and ex-situ cultivation efforts of endemic flora of the Juan Fernandez Archipelago. *Biodiversity and Conservation* 15: 3111–3130.
- Richards PC, Gatliff RW, Quinn MF, Williamson JP & NGT Fannin.** 1996. The geological evolution of the Falkland Islands continental shelf. In Storey BC, King EC & RA Livermore (eds.), *Weddell Sea tectonics and Gondwana break-up, (Special Publication 108)*, pp. 105–128. Geological Society, London.
- Rodríguez Ríos R.** 1987. Notas taxonómicas sobre el género *Polystichum* Roth (Aspidiaceae-Filicidae) en Chile. *Gayana Botánica* 44: 45–53.
- Rodríguez Ríos R.** 1989. Phytogeographical and taxonomical comments on Chilean pteridophyta. *Gayana Botánica* 46: 199–208.
- Roig-Juñent S.** 1994. *Historia Biogeográfica de América del Sur Austral. Multequina* 3: 167–203.
- Ronquist F & J Huelsenbeck.** 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.

- Ronquist F , Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Hohna S, Larget B, et al.** 2012 . MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539 – 542.
- Roux JP.** 2000. The genus *Polystichum* (Dryopteridaceae) in Africa. *Bulletin of the Natural History Museum. Botany series* 30 (2): 33–79.
- Roux JP.** 2001. A review of the fern genus *Polystichum* (Pteropsida: Dryopteridaceae) in Madagascar and the Mascarene Region. *Adansonia* 23: 265–287.
- Roux JP.** 2004. The fern genus *Polystichum* (Pteropsida: Dryopteridaceae) in Macaronesia. *Systematics and Biodiversity* 2 (2): 147–161.
- Roux JP & AE Van Wyk.** 2000. Morphology and anatomy of the rhizome and frond in the African species of *Polystichum* (Pteropsida: Dryopteridaceae). *Bothalia* 30 (1): 57–68.
- Sanders RW, Stuessy TF & R Rodríguez Ríos.** 1983. Chromosome numbers from the flora of the Juan Fernandez Islands. *American Journal of Botany* 70: 799–810.
- Sandoval Zapotitla E.** 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Cuadernos 38. Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México. UNAM, México D.F.
- Sanmartín I & F Ronquist.** 2004. Southern Hemisphere Biogeography inferred by Event-based models: plant versus animal patterns. *Systematic Biology* 53 (2): 216–243.
- Shaw J, Lickey EB, Beck JT, Farmer SB, Liu W, Miller J, Siripun KC, et al.** 2005. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany* 92: 142–166.
- Schneider H.** 2007. Plant morphology as the cornerstone to the integration of fossils and extant taxa in phylogenetic systematics. *Species, Phylogeny and Evolution* 1: 65–74.
- Schneider H, Schuettpelz E, Pryer KM, Cranfi II R, Magallon S & R Lupia.** 2004. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature* 428: 553–557.

- Schneller JJ.** 1974. Untersuchungen an einheimischen Farnen, insbesondere der *Dryopteris filix-mas*-Gruppe 1. Teil. Berichte der Schweizerischen botanischen Gesellschaft 84: 195–217.
- Schneller JJ.** 1979. Biosystematic investigations on the Lady Fern (*Athyrium filix-femina*). Plant Systematics and Evolution 132: 255–277.
- Schuettpelez E & KM Pryer.** 2009. Evidence for a Cenozoic radiation of ferns in an angiosperm dominated canopy. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh 106 (27): 11200–11205.
- Schuettpelez E & KM Pryer.** 2007. Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes. Taxon 56: 1037–1050.
- Schuettpelez E, Korall P. & KM Pryer.** 2006. Plastid atpA data provide improved support for deep relationships among ferns. Taxon 55: 987–906.
- Seguel P, Romero-Mieres M & C Palma-Rojas.** 2006. Chromosome numbers of Chilean pteridophytes: first contribution. Gayana Botánica 63 (1): 115–118.
- Seijo JG.** 2002. Estudios citogenéticos en especies sudamericanas del género *Lathyrus*, sección *Notolathyrus* (Leguminosae). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.
- Sen U & B De.** 1992. Structure and ontogeny of stomata in ferns. Blumea 37: 239–261.
- Sérsic AN, Cosacov A, Cocucci AA, Johnson LA, Pozner R, Avila LJ, Sites JW Jr. & M Morando.** 2011. Emerging phylogeographical patterns of plants and terrestrial vertebrates from Patagonia. Biological Journal of the Linnean Society 103: 475–494.
- Shaw J, Lickey Eb, Beck JT, Farmer SB, Liu W, Miller J & KC Siripun, et al.** 2005. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. American Journal of Botany 92: 142–166.
- Shimura Y & M Ooishi.** 1980. A study on the chromosome numbers of some taxa of Japanese *Polystichum*. Taxon 28: 24–27.

- Sigel EM, Windham MD, Huiet L, Yatskievych G & KM Pryer.** 2011. Species relationships and farina evolution in the cheilanthoid fern genus *Argyrochosma* (Pteridaceae). *Systematic Botany* 36: 554–564.
- Simmons MP & H Ochoterena.** 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology* 49: 369–381.
- Singh RJ.** 2003. *Plant Cytogenetics*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Sleep A.** 2014. Hybridization in *Polystichum* (Dryopteridaceae: Pteridophyta). *The Fern Gazette* 19 (8): 319–341.
- Smith AR & JT Mickel.** 1977. Chromosome counts for mexican ferns. *Brittonia* 29: 391–398.
- Smith AR & MS Foster.** 1984. Chromosome numbers and ecological observations of ferns from El Tirol, Paraguay. *The Fern Gazette* 12: 321–329.
- Smith AR.** 1981. Part 2. Pteridophytes. In: Breedlove DE (ed.), *Flora of Chiapas*, California Academy of Sciences, San Francisco.
- Smith AR, Pryer KM, Schuettpelz E, Korall P, Schneider H & PG Wolf.** 2006. A classification for extant ferns. *Taxon* 55: 705–731.
- Smith AR, Pryer KM, Schuettpelz E, Korall P, Schneider H & PG Wolf.** 2008. Fern classification. In: Ranker TA & CH Haufler (eds.), *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes*, 417–467 pp. Cambridge University Press, Cambridge.
- Socolsky C, Hernández MA & A Bardón.** 2012. Fern Acylphloroglucinols: Structure, Location, and Biological Effects Studies. In Atta-ur-R (ed.), *Natural products chemistry v.5*, pp 105-157. Amsterdam.
- Soltis DE & PS Soltis.** 1990. Isozyme evidence for ancient polyploidy in primitive angiosperms. *Systematic Botany* 15: 328–337.
- Soltis DE & PS Soltis.** 1995. The dynamic nature of polyploid genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92: 8089–8091.

Soltis DE & PS Soltis. 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology & Evolution* 14: 348–352.

Soltis PS & DE Soltis. 2000. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (13): 7051–7057.

Soltis DE & PS Soltis. 2003. The Role of phylogenetics in comparative genetics. *Plant Physiology* 132 (4): 1790–1800.

Soltis DE, Soltis PS & JA Tate. 2003. Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. *New Phytologist* 161: 173–191.

Souza-Chies TT, Bittar G, Nadot S, Carter L, Besin E & B Lejeune. 1997. Phylogenetic analysis of Iridaceae with parsimony and distance methods using the plastid gene *rps4*. *Plant Systematics and Evolution* 204: 109–123.

Sota ER de la, Ponce MM, Morbelli MA & LA Cassá de Pazos. 1998. *Polystichum* In: Correa MN (ed.) *Flora Patagónica* v. 1, pp 356–361. Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires.

Sporne KR. 1962. *The Morphology of Pteridophytes*. Hutchinson University Library. Biological Sciences. London.

Stafleu FA & RS Cowan. 1976–1988. *Taxonomic literature. A selective guide to botanical publications and collections with dates, commentaries and types.* (Regnum Vegetabile vols. 94, 98, 105, 110, 112, 115, 116) 2 ed. v. I (1976); II (1979); III (1981); IV (1983); V (1985); VI (1986); VII (1988). Bohn, Scheltema & Hokema, Utrecht & Antwerp, Utrecht.

Stebbins GL. 1947. Types of polyploids, their classification and significance. *Advanced Genetics* 1: 403–429.

Stergianou KK & K Fowler. 1990. Chromosome numbers and taxonomic implications in the fern genus *Azolla* (Azollaceae). *Plant Systematics and Evolution* 173: 223–239.

Stolze RG. 1981. Ferns and fern allies of Guatemala, part 2. Polypodiaceae. *Fieldiana, Botanica* n.s. 6: 1–522.

Stuessy TF, Crawford DJ & C Marticorena. 1990. Patterns of phylogeny in the endemic vascular flora of the Juan Fernandez Islands, Chile. *Systematic Botany* 15: 338–346.

Stuessy TF & DJ Crawford. 1998. Chromosomal stasis during speciation in angiosperms of oceanic islands. In Stuessy TF & M Ono (eds), *Evolution and speciation of island plants*, pp. 307–324. Cambridge University Press, Cambridge.

Stuessy TF, Jakubowsky G, Salguero Gómez R, Pfosser M, Schlüter PM, Fer T, Sun B-Y & H Kato. 2006. Anagenetic evolution in island plants. *Journal of Biogeography* 33: 1259–1265.

Stuessy TF, Takayama K, López-Sepúlveda P & DJ Crawford. 2014. Interpretation of patterns of genetic variation in endemic plant species of oceanic islands. *Botanical Journal of the Linnean Society* 174: 276–288.

Sundue MA. 2010a. A morphological cladistic analysis of *Terpsichore*. *Systematic Botany* 35: 716–729.

Sundue MA, Islam MB & TA Ranker. 2010b. Systematics of Grammitid Ferns (Polypodiaceae): Using Morphology and Plastid Sequence Data to Resolve the Circumscriptions of *Melpomene* and the Polyphyletic Genera *Lellingeria* and *Terpsichore*. *Systematic Botany* 35 (4):701–715.

Swenson U, Hill RS & S McLoughlin. 2001. Biogeography of *Nothofagus* supports the sequence of Gondwana break-up. *Taxon* 50: 1–17.

Taberlet P, Gielly L, Pautou G & J Bouvet. 1991 . Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105–1109.

Tagawa M. 1940. *Polystichum* in Japan, Korea, and Formosa I. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 9: 119–138.

Takamiya M. 1993. Comparative karyomorphology and interrelationships of *Selaginella* in Japan. *Journal of Plant Research* 106: 149–166.

Takamiya M, Osato K & K Ono 1992. Karyomorphological studies on *Woodwardia* sensu lato of Japan. *Botanical Magazine* 105: 247–263.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M & S Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28 (10): 2731–2739.

Taylor TMC. 1970. *Pacific Northwest Ferns and their Allies.* Univ. of Toronto Press. Toronto & Buffalo.

Thiers B. 2013. *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff.* New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available from

<http://sweetgum.nybg.org/ih/>

Tryon RM & AF Tryon. 1982. *Ferns and allied plants with special reference to tropical America.* Springer-Verlag, New York.

Tryon AF & B Lugardon. 1990. *Spore of the Pteridophyta: surface, wall structures and diversity based on electron microscope studies.* Springer-Verlag. New York.

Turchetto-Zolet AC, Pinheiro F, Salgueiro F & C Palma-Silva. 2013. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology* 22 (5): 1193–1213.

Van Cotthem WRJ. 1970. Comparative morphological study of the fem stomata in the Filicopsida. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique* 40: 81–239.

Van Cotthem WRJ. 1973. Stomatal types and systematics. In: Crabbe JA & BA Thomas (eds.). *The phylogeny and classification of the ferns.* *Botanical Journal of the Linnean Society* 67: 59–71.

Veevers JJ, Powell CM & SR Roots. 1991. Review of sea floor spreading around Australia. I. Synthesis of the patterns of spreading. *Australian Journal of Earth Sciences* 38: 373–389.

Verma SC. 1961. In: Mehra PN. Chromosome numbers in Himalayan ferns. Research Bulletin of the Panjab University (Science)12: 13–164.

Vida G & T Reichstein. 1975. Taxonomic problems in the fern genus *Polystichum* caused by hybridization. In Walters SM (ed.), European Floristic and Taxonomics Studies, pp 126–135. E W. Classey Faringdon.

Villagrán C & LFHinojosa. 2005. Esquema biogeográfico de Chile. In Llorente Bousquets J & JJ Morrone (eds.), Regionalización biogeográfica en Iberoamérica y tópicos afines. Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F.

Von Kalm L & DR Smyth. 1984. Ribosomal RNA genes and the substructure of nucleolar organizing regions in Lillium. Genome 26: 158–166.

WagnerDH. 1979. Systematics of *Polystichum* in western North America and north of Mexico. Pteridología 1: 1–64.

Wagner FS. 1980. New basic chromosome numbers for genera of neotropical ferns. American Journal of Botany 67: 733–738.

Wagner WH. 1962. Irregular morphological development in hybrid ferns. Phytomorphology 12: 87–100.

Wagner WH, Wagner FS & WC Taylor. 1986. Detecting abortive spores in herbarium specimens of sterile hybrids. American Fern Journal 76 (1): 29–140.

Wagner WH. 1973. Reticulation in Holly Ferns (*Polystichum*) in the Western United States and Adjacent Canada. American Fern Journal 63 (3): 99–115.

Wagner WH. 1985. Morphological variation and evolution in *Polystichum*. In: Barrington DS, The present evolutionary and taxonomic status of the fern genus *Polystichum*: The 1984 Botanical Society of America Pteridophyte Section Symposium. American Fern Journal 75: 22–28.

Wagner WR. 1954. Reticulate Evolution in the Appalachian Aspleniums. Evolution 8 (2): 103–118.

- Walker TG.** 1966. A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. Transactions of the Royal Society of Edinburgh 66: 169–237.
- Walker TG.** 1985. Cytotaxonomic studies of the ferns of Trinidad 2. The cytology and taxonomic implications. Bulletin of the British Museum (Natural History) 13: 149–249.
- Wang Z-R & Q Xia.** 1984. Cytological observations on some species of *Dryopteris* and *Polystichum* from China. Acta Botanica Sinica 26: 24–27.
- Warburton D & AS Henderson.** 1979. Sequential silver staining and hybridization in situ of nucleolus organizer regions in human cells. Cytogenetics and Cell Genetics 24: 168–175.
- Waters JM, Dijkstra LH & GP Wallis.** 2000. Biogeography of a southern hemisphere freshwater fish: How important is marine dispersal? Molecular ecology 9: 1815–1821.
- Wei R, Zhang X-C & X-P Qi.** 2010. Phylogeny of *Diplaziopsis* and *Homalosorus* based on two chloroplast DNA sequences: *rbcl* and *rps4 + rps4-trnS* IGS. Acta Botanica Yunnanica suppl. 17: 46–54.
- Weng R-F.** 1990. Cytological observations of some Chinese ferns. Acta Phytotaxonomica Sinica 28: 27–33.
- Werth CR & MD Windham.** 1991. A model for divergent, allopatric speciation of polyploidy pteridophytes resulting from silencing of duplicate-gene expression. American Naturalist 137: 515–526.
- Widén C-J, Fraser-Jenkins CR, Reichstein T, Gibby M & J Sarvela.** 1996. Phloroglucinol derivatives in *Dryopteris* sect. *Fibrillosae* and related taxa. Annales Botanici Fennici 33: 69–100.
- Widén C-J, Fraser-Jenkins CR & T Reichstein.** 1997. New phloroglucinol derivatives in *Dryopteris* *subimpresae* (Pteridophyta, Dryopteridaceae). Annales Botanici Fennici 34: 21–26.
- Windham MD & G Yatskievych.** 2003. Revised nomenclature and a new North American record for the Villose Cliff Brake (*Pellaea*, Pteridophyta). Novon 13: 358–362.

- Winkworth RC, Wagstaff SJ, Glenny D & P Lockhart.** 2002. Plant dispersal N.E.W.S. from New Zealand. *Trends in ecology & evolution* 17: 514–520.
- Xiang J-Y, Chengand X & SG Wu.** 2006. Chromosome numbers of 13 species in the genus *Dryopteris* (Dryopteridaceae) from Yunnan, China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 44: 304–319.
- Yatskievych G.** 1996. A revision of the fern genus *Phanerophlebia* (Dryopteridaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 83: 168–199
- Yu Y, Harris AJ & X-J He.** 2010. S-DIVA (Statistical Dispersal- Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. *Molecular Biology and Evolution* 56: 848–850.
- Yu Y, Harris AJ & XJ He.** 2011. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies), version 2.0.1.0. <http://mnh.scu.edu.cn/soft/blog/RASP>.
- Zarlavsky GE.** 2014. *Histología Vegetal. Técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica. Buenos Aires.
- Zhang L.** 1996. Study on foliar epidermis of Chinese sect. *Metapolystichum* Tagawa and sect. *Neopolystichum* Ching (*Polystichum* Roth). *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* 2 (4): 361–368.
- Zhang LB & DS Barrington.** 2013. *Polystichum*. In Zhengyi W, Raven PH & H Deyuan (eds.), *Lycopodiaceae through Polypodiaceae, Flora of China*, v. 2–3, pp 629–713. Science Press, Beijing & Missouri Botanical Garden Press.
- Zhang L-B.** 2012. Taxonomic and nomenclatural notes on the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae) in China. *Phytotaxa* 60: 57–60.
- Zhang LB & HS Kung.** 1996b. A taxonomic study of the fern genus *Polystichum* sect. *Metapolystichum* Tagawa from China (III). *Acta Phytotaxonomica Sinica* 34: 194–203.

Apéndice 1

Tabla con los antecedentes de recuentos cromosómicos en Dryopteridaceae

Género	Niveles de ploidía	Número de especies	
		con recuentos	Conocidas
<i>Polystichum</i>	2, 3, 4, 6, 8	80	400
<i>Aracniodes</i>	2, 4	31	60
<i>Bolbitis</i>	2, 3, 4	13	80
<i>Coveniella</i>	2	1	1
<i>Ctenitis</i>	2, 4	21	150
<i>Cyrtomium</i>	2, 3, 4	22	40
<i>Cyrtogonellum</i>	3	3	8
<i>Dryopsis</i>	2	1	21
<i>Dryopteris</i>	2, 3, 4, 6	108	400
<i>Elaphoglossum</i>	2, 4, 8	20	400
<i>Lastreopsis</i>	2 (mayoría), 4	14	35
<i>Leptorumohra</i> (= <i>Aracniodes</i>)	2	1	4
<i>Lithostegia</i>	4	1	1
<i>Phanerophlebia</i>	2, 3, 4	9	9
<i>Phanerophlebiopsis</i> (= <i>Aracniodes</i>)	2	1	9
<i>Polybotrya</i>	2	3	35
<i>Revwattsia</i> (= <i>Dryopteris</i>)	8	1	1
<i>Rumohra</i>	2	2	3
<i>Stigmatopteris</i>	2	1	25
<i>Teratophyllum</i>	2	1	13
Totales		328	1795

Apéndice 2

Resumen de los datos citogenéticos de *Polystichum* y publicaciones de referencia

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Polystichum acanthophyllum</i> (Franch.) Christ	4x	82	164	Indo-Himalayo, Sino-Japonés (Yunnan)	Mashobra, Simla Hills, Himalayas, Western Himalayas	Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. <i>Pl. Syst. Evol.</i> 129: 269–275.
<i>P. acrostichoides</i> (Michx.) Schott	2x		82	Norteamérica y Mexico	Ontario, Canadá	Britton, D. M. 1964. Chromosome number of ferns in Ontario. <i>Can. J. Bot.</i> 42: 1349–1354.
<i>P. aculeatum</i> (L.) Roth ex Mert.	4x		164	Circumboreal, Yunnan	Lake District (Britain), Yorkshire and Switzerland. Simla y Nainital (Himalayas)	Manton, I. 1950. Problems of cytology and evolution in the Pteridophyta (Cambridge University Press: Cambridge).
<i>P. acutidens</i> Christ	4x		164	Este de Asia, India, Indochina, Malasia	Omei Shan, Szechuan, China	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). <i>Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot.</i> 14 (1): 1-42.
<i>P. acutipinnulum</i> Ching & K. H. Shing	2x		82	Yunnan	Yunnan. China	Barrington, D.S. 2006. 'Cytological information for the genus <i>Polystichum</i> .' (University of Vermont, Burlington, VT) Available at http://www.uvm.edu/~dbarrington/polycytology.pdf . [Verified 14 Abril 2016]
<i>P. alaskense</i> Maxon	4x		164	Norteamérica	Alberta, Rocky Mountain	Taylor, T. M. C. & F. Lang. 1963. Chromosome counts in some British Columbia Ferns. <i>Amer. Fern J.</i> 53: 123-126.

Apéndice 2

Espece	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. andersonii</i> Hopkins	4x	82	164	Norteamérica	Smithers, USA	Wagner, W. H. Jr. 1973. Reticulation in Holly Ferns (<i>Polystichum</i>) in the Western United States and Adjacent Canada. Amer. Fern J. 63 (3): 99-115.
<i>P. anomalum</i> (Hook. & Arn.) J. Sm.	2x		82	Este de Asia, India, Indochina	Ceylan,	Mehra, P. N. 1961 b. Cytological evolution of ferns with particular reference to Himalayan ferns. Proc. Indian Sci. Cong. J. Sm.
<i>P. anomalum</i> (Hook. & Arn.) J. Sm.	6x		246	Yunnan, India, Indochina	Japón	Khullar, S. P., S. S. Sharma & S. C. Verma. 1988. SOCGI plant chromosome number reports -- VI. J. Cytol. Genet. 23: 38-52
<i>P. atkinsonii</i> Bedd.	2x		82	Yunnan, India	Darjeeling and Sikkim Himalayas	Mehra, P. N. 1961 b. Cytological evolution of ferns with particular reference to Himalayan ferns. Proc. Indian Sci. Cong. Presedential Address (part III) 48: 130-153.
<i>P. australiense</i> Tindale	4x	82		Australia	Wolgan Junction, NSW. Australia	Tindale, M. 2002. In M. D. Tindale & S. K. Roy, A cytotaxonomic survey of the Pteridophyta of Australia. Austral. Syst. Bot. 15: 839-937.
<i>P. biaristatum</i> (Blume) T. Moore	4x		164	Yunnan, India, Indochina, Malasia	Shevaroy Hills, South India. Taiwan.	Ghatak, J. 1977. Biosystematic survey of pteridophytes from Shevaroy Hills, south India. Nucleus 20: 105-108. Tsai, J. L. & W. C. Shieh. 1985. A cytotaxonomic survey of the fern family Aspidiaceae (sensu Copeland) in Taiwan. J. Sci. Engin. 22: 121-144.
<i>P. braunii</i> (Spenner) Fée	4x	82-84	ca. 164	Yunnan	West Sayan (Krasnoyarsk Eegion)	Stepanov, N. V. 1994. Chromosome numbers in some nemoral species of the West Sayan (Krasnoyarsk region). Bot. Zhurn. (Moscow & Leningrad) 79(3): 125-128.

Apéndice 2

Espece	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. californicum</i> Diels	4x		164	Región de Madeira, Norteamérica, Maya	California, Oregon	Wagner D.H. 1979. Systematics of <i>Polystichum</i> in western North America and north of Mexico. <i>Pteridología</i> 1:1-64.
<i>P. capillipes</i> (Baker) Diels	2x		82	Yunnan, Sino-Japonés	Taiwan,	Flora of China. Editorial Committee. 2013. Flora of China (Lycopodiaceae through Polypodiaceae). 2–3: In C. Y. Wu, P. H. Raven & D. Y. Hong (eds.) <i>Fl. China</i> . Science Press & Missouri Botanical Garden Press, Beijing & St. Louis.
<i>P. christiana</i> (Jenm.) Underw. & Maxon	2x	41	82	Antillas	Jamaica	Walker, T. G. 1966. A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. <i>Trans. Roy. Soc. Edinburgh</i> 66:169–237.
<i>P. concinnum</i> Lellinger ex Barrington	2x		82	Antillas	Sierra Talamanca. Cerro de la Muerte. San José y Cartago provinces. Costa Rica	Barrington, D.S. 1990. Hybridization and allopolyploidy in Central American <i>Polystichum</i> : cytological and isozyme documentation. <i>Ann. Missouri Bot. Gard.</i> 77: 297–305
<i>P. craspedosorum</i> (Maxim.) Diels	2x		82	Yunnan, Sino-Japonés	Japón	Löve A, D Löve & REG PichiSermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta. Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).
<i>P. cystostegium</i> J.B. Armstr.	4x		164	Nueva Zelanda	Porters pass, New Zealand	Brownlie, G. 1958: Chromosome numbers in New Zealand ferns. <i>Trans. Royal Soc. New Zealand</i> 85: 213–216.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. deltodon</i> (D. Don) J. Sm.	4x	82	164	Yunnan, Sino-Japonés	Taiwan	Tsai, J. L. & W. C. Shieh. 1985. A cytotaxonomic survey of the fern family Aspidiaceae (sensu Copeland) in Taiwan. J. Sci. Engin. 22: 121–144.
<i>P. discretum</i> (D. Don) J. Sm.	2x	41	82	Yunnan, Sino-Japonés	Yunnan (China), E. of Mandi, Beas river gorge, Simla, Himachal Pradesh, NW. India,	Bir S.S. & G.S. Rai, SOCGI plant chromosome number reports -II. J. Cytol. Genet. 19: 111-112.
<i>P. distans</i> Fournier	2x		2n= 41 II ¿82?	Antillas, Maya.	Méjico. Chiapas: Cerro Huitepec	Smith A.R. & J.T. Mickel. 1977. Chromosome counts for mexican ferns. Brittonia 29: 391-398.
<i>P. drepanum</i> C. Presl	4x	82	164	Islas del Atlántico	Madeira	Manton, I., J. D. Lovis, G. Vida & M. GIBBY. 1986. Cytology of the fern flora of Madeira. Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 15(2): 123–161.
<i>P. dubium</i> (H. Karst.) Diels	2x	n=41II	82	Antillas, Maya.	Prov. Volcán Barba, Above Porrosatí. Costa Rica	Walker, T. G. 1966. A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. Trans. Roy. Soc. Edinburgh 66: 169–237.

Apéndice 2

Espece	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. dudleyi</i> Maxon	2x		82	Madeira. Norteamérica y Maya	California, USA	Walker, T. G. 1966. A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. Trans. Roy. Soc. Edinburgh 66:169–237.
<i>P. equinatum</i> (J.F. Gmel.) C. Chr.	4x	82	164	Antillasy Maya.	Jamaica, Puerto Rico,	Walker, T. G. 1966. A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. Trans. Roy. Soc. Edinburgh 66:169–237.
<i>P. equinatum</i> (J.F. Gmel.) C. Chr.	2x	41	82	Antillasy Maya	Jamaica	Smith A.R. & J.T. Mickel. 1977. Chromosome counts for mexican ferns. Brittonia 29: 391-398.
<i>P. erosum</i> Ching & Shing	4x		164	Yunnan, Sino-Japonés	Emei Shan, Sichuan province, China	Wang, Z. & Q. Xia. 1984. Cytological observations on some species of <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> from China. Acta Bot. Sin. 26: 1–10.
<i>P. erythrosorum</i> A.R. Sm. (= <i>Dryopteris erythrosora</i>)	2x		2n= 41 II ¿82?	Antillas y Maya	Chiapas: Zontehuitz. Méjico	Smith A.R. & J.T. Mickel. 1977. Chromosome counts for mexican ferns. Brittonia 29: 391-398.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. falcinellum</i> (Sw.) C. Presl	8x		328	Islas Atlántico	Madeira	Manton, I., J. D. Lovis, G. Vida & M. Gibby. 1986. Cytology of the fern flora of Madeira. Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 15(2): 123–161.
<i>P. fallax</i> Tindale	4x	82	164	Australia	Mt Kaputar National Park, NSW. Australia	Tindale, M. 2002. In M. D. Tindale & S. K. Roy, A cytotoxic survey of the Pteridophyta of Australia. Austral. Syst. Bot. 15: 839–937.
<i>P. fibrilloso-paleaceum</i> (Kodama) Tagawa	2x		82	Yunnan, Sino-Japonés	Jinmuji, Japón	Yamamoto, A., M. Ishizuka & T. Nakaïke. 1978. Studies in fern genus <i>Polystichum</i> II. A taxonomical study on <i>P. miuranum</i> at Jinmuji, Pref. Kanagawa. Bull. Natl. Sci. Mus. Tokyo, B 4: 71–82.
<i>P. formosanum</i> Rosenst.	2x; 4x		82/164	Yunnan, Sino-Japonés	Taiwan n=82, Ryukyu n=41; Japón (Asahi) n=41	Löve A., D. Löve & R.E.G. Pichi Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta. Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).
<i>P. formosum</i> Rosenst.	4x		164	Australia	Limpinwood National Res., NSW	Löve A., D. Löve & R.E.G. Pichi Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta. Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).
<i>P. grandifrons</i> C. Chr.	2x		82	Yunnan, Sino-Japonés	Taiwan, China (Guangxi, Guizhou, Yunnan)	Löve A., D. Löve & R.E.G. Pichi Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).

Apéndice 2

Espece	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. grandifrons</i> C. Chr.	4x	82	164	Yunnan, Sino-Japonés	Taiwan, Japón	Mitui, K. 1976a. Chromosome numbers of some ferns in the Ryukyu Islands. J. Jap. Bot. 51: 33–41. Tsai, J. L. & W. C. Shieh. 1985. A cytotaxonomic survey of the fern family Aspidiaceae (sensu Copeland) in Taiwan. J. Sci. Engin. 22: 121–144. 84-
<i>P. hancockii</i> (Hance) Diels	2x	41	82	Yunnan, Sino-Japonés	Taiwan; Ryukyu Islands (=Liu Kiu)	Tsai, J. L. & W. C. Shieh. 1985. A cytotaxonomic survey of the fern family Aspidiaceae (sensu Copeland) in Taiwan. J. Sci. Engin. 22: 121–144. 84-
<i>P. harpophyllum</i> (Zenker ex Kunze) Sledge	2x		82	India	Sri Lanka, India (South)	Khullar y Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. 1982
<i>P. hartwegii</i> (Klotzsch) Hieron.	2x		2n= 41 II	Antillas	Chiapas: 50 Km NE de Huixtla hacia Motozintla. Méjico.	Smith A.R. & J.T. Mickel. 1977. Chromosome counts for mexican ferns. Brittonia 29: 391-398.
<i>P. igaense</i> Tagawa	2x		82	Yunnan, Sino-Japonés	Japón (Gotenba) endémico	Taylor, T. M. C. & F. Lang. 1963. Chromosome counts in some British Columbia Ferns. Amer. Fern J. 53: 123-126.
<i>P. incongruum</i> J.P. Roux	4x	82	164	Uzabara-Zululand África	Oeste y Este de El Cabo	Roux, J. P. 1997. A new species of <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae) from South Africa. Bot. J. Linn. Soc. 125: 35–43.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. kruckebergii</i> W.H. Wagner	4x		164	Norteamérica	Sierra-Cascada y Montañas Rocallosas. USA	Wagner, W. H. Jr. 1973. Reticulation in Holly Ferns (<i>Polystichum</i>) in the Western United States and Adjacent Canada. Amer. Fern. J. 63 (3): 99-115.
<i>P. kurokawae</i> Tagawa	4x		164	Yunnan, Sino-Japonés	Japón	Löve A., D. Löve & R.E.G. Pichi Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta. Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).
<i>P. lachenense</i> (Hook.) Bedd.	4x		164	Norteamérica. , Yunnan, Sino-Japonés India	Alpather, Gulmarg (Himalaya) Montañas Rocallosas (USA)	Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. Pl. Syst. Evol. 129: 269–275.
<i>P. lachenense</i> (Hook.) Bedd.	2x, 4x		82.164	Yunnan, Sino-Japonés	Este de Asia, India Taiwan	Tsai, J. L. & W. C. Shieh. 1985. A cytotaxonomic survey of the fern family Aspidiaceae (sensu Copeland) in Taiwan. J. Sci. Engin. 22: 121–144.
<i>P. lemmonii</i> Underw.	2x	41	82	Norteamérica	Rocky Mountain Westbridge. USA	Wagner, W. H. Jr. 1973. Reticulation in Holly Ferns (<i>Polystichum</i>) in the Western United States and Adjacent Canada. Amer. Fern. J. 63 (3): 99-115.
<i>P. lentum</i> (D. Don) T. Moore	2x		82	India	Dhowali, Thal-Didihat forest, Kumaon Hills (Western Himalaya). Narainkoti, Mandakini valley, N. of Rishikesh, Chamou, Uttar	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese Dryopteris and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 14: 1–42. Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. Pl. Syst. Evol. 129: 269–275.

Apéndice 2

Espece	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. lonchitis</i> (L.) Roth	2x	41	82	Yunnan, Sino-Japonés	Ningal nallah, Gulmarg (Western Himalaya). Bruce Peninsula Ontario; Scotland, Ireland and Switzerland	Löve, A. & D. Löve. 1976. In IOPB chromosome number reports LIII. Taxon 25: 483–500. Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. Pl. Syst. Evol. 129: 269–275.
<i>P. longifrons</i> Kurata	4x		164	Yunnan, Sino-Japonés	Japón	Mitui, K. 1976. Chromosome studies on Japanese ferns (5). Bull. Nippon Dental Univ., Gen. Educ. 5: 133–140.
<i>P. longipaleatum</i> Christ	2x		82	Yunnan, Sino-Japonés	Guangxi (Damiao Shan, Longsheng),	Löve A, D Löve & R.E-G- Pichi Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).
<i>P. luctuosum</i> (Kunze) T. Moore	3x		123 apógamo	África	Zimbabwe on Mount Nyangani; Eastern Cape Uzabara-Zululand. Africa	Punetha, N., B. S. Kholia & A. Sen. 1988. A note on the cytology of <i>Polystichum luctuosum</i> (Kunze) T. Moore. Indian Fern J. 5: 125–126.
<i>P. luctuosum</i> (Kunze) T. Moore	4x		164	África	El Cabo	Roux, J. P. 2000. The genus <i>Polystichum</i> (Dryopteridaceae) in Africa. Bull. Nat. Hist. Mus. London, Bot. 30: 33–79
<i>P. macleae</i> Diels	4x		164	África	Uzabara-Zululand. Mpumalanga (South Africa), y norte de Swaziland	Roux, J. P. 2000. The genus <i>Polystichum</i> (Dryopteridaceae) in Africa. Bull. Nat. Hist. Mus. London, Bot. 30: 33–79

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. makinoi</i> (Tagawa) Tagawa	4x		164	Yunnan, Sino-Japonés	Yu-Shien-Sze temple, Mt of 1000 temples, Omei Shan, Szechuan, China	Löve A, D Löve & R.E.G. Pichi Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta. Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).
<i>P. manmeiense</i> (Christ) Nakaike	4x		164	Yunnan, Sino-Japonés	Sandakphoo and Kalpokhri, Singalilla Ridge, nr Darjeeling, Benga, India.	Khullar, S. P., S. S. Sharma & S. C. Verma. 1988. SOCGI plant chromosome number reports VI. J. Cytol. Genet. 23: 38–52
<i>P. mehrae</i> Fraser-Jenk. & Khullar	4x		164	Yunnan, Sino-Japonés. India	W. Bengal, India	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 14 (1): 1-42.
<i>P. microchlamys</i> (Christ) Matsum.	2x, 3x			Yunnan, Sino-Japonés	Japan (Hokkaido, central-northern Honshu), Kuriles and Kamtchatka Japón	Mitui, K. 1976. Chromosome studies on Japanese ferns (5). Bull. Nippon Dental Univ., Gen. Educ. 5: 133–140.
<i>P. microchlamys</i> (Christ) Matsum.	4x			Yunnan, Sino-Japonés	Eastern China	Taylor, T. M. C. and F. Lang. 1963. Chromosome counts in some British Columbia Ferns. Amer. Fern J. 53: 123-126.
<i>P. moluccense</i> T. Moore	2x	41	82	Papua	Molucca Is.	Löve A., D. Löve & R.E.G. Pichi.Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. monticola</i> N.C. Anthony & Schelpe	6x		246 apógamo	África	Uzabara-Zululand. South Africa, KwaZulu Natal, Cape Peninsula	Daigobo, S. 1973. Chromosome numbers of the fern genus <i>Polystichum</i> (1). J. Jap. Bot 48:337–344.
<i>P. montevidense</i> (Spreng.) Rosenst.	2x		82	Brazilero, Andino	Tucumán: Dpto. Chicligasta. Cuesta del Clavillo. Los Gigantes, Córdoba	Condack J.P.S., M. A. McHenry, R.E. Morero, L. S. Sylvestre & D.S. Barrington. 2013. <i>Polystichum montevidense</i> demystified: molecular and morphologic data reveal a cohesive, widespread South American species. Amer. Fern J. 103 (2): 118-130.
<i>P. moupinense</i> (Franch.) Bedd.	4x		164	Yunnan India	China, India	Wang, Z. & Q. Xia. 1984. Cytological observations on some species of <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> from China. Acta Bot. Sin. 26: 1–10.
<i>P. munitum</i> (Kaulf.) C. Presl	2x	41	82	Norteamérica	Sooke, Kittitas Washington USA	Wagner, W. H. Jr. 1973. Reticulation in Holly Ferns (<i>Polystichum</i>) in the Western United States and Adjacent Canada. Amer. Fern J. 63 (3): 99-115.
<i>P. muricatum</i> (L.) Fée	2x		2n= 41 II, 82	Antillas, Maya y Andes	Méjico. Chiapas 16 km al NW de Rizo de Oro, SE de Cerro Baul. Oaxaca	Smith A.R. & J.T. Mickel. 1977. Chromosome counts for mexican ferns. Brittonia 29: 391-398.
<i>P. neolobatum</i> Nakai	3x		ca. 123 apomictico	Yunnan, Sino-japonés	Hattu, Narkanda, nr Simla, Himachal Pradesh, N. India	Daigobo, S. 1973. Chromosome numbers of the fern genus <i>Polystichum</i> (1). J. Jap. Bot 48:337–344.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. neozelandicum</i> <i>Feé</i> subsp. <i>neozelandicum</i>	8x	ca. 164 biv		Nueva Zelanda	Waikato, Gordonton	Perrie L.R., P. J. Brownsey, P. J. Lockhart & M. F. Large. 2003. Evidence for an allopolyploid complex in New Zealand <i>Polystichum</i> (Dryopteridaceae). New Zealand J. Bot. 41: 189-215
<i>P. neozelandicum</i> <i>Fée</i> subsp. <i>zerophyllum</i> (Colenso) Perrie	8x	ca. 164 biv		Nueva Zelanda	Napier. Wairarapa, Ruakokoputuna	Perrie L.R., P.J. Brownsey, P.J. Lockhart & M.F. Large. 2003. Evidence for an allopolyploid complex in New Zealand <i>Polystichum</i> (Dryopteridaceae). New Zealand J. Bot. 41: 189-215.
<i>P. nepalense</i> (Spreng.) C. Chr.	2x		82	Yunnan, Sino-japonés, India.	Himalaya. China (Yunnan, Szechuan), Taiwan, Philippines. Manali, Rohtang Pass, Kulu, Himalaya Pradesh, NW. India	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 14 (1): 1-42.
<i>P. obai</i> Tagawa	2x		82	Yunnan, Sino-japonés	Japan, endemic to Ryukyu	Mitui, K. 1976. Chromosome numbers of some ferns in the Ryukyu Islands. J. Jap. Bot. 51: 33-41. Tsai, J. L. & W. C. Shieh. 1985. A cytotaxonomic survey of the fern family Aspidiaceae in Taiwan. Int. J. Eng. Sci. NCHU 22, 121-144. AB
<i>P. obliquum</i> (D. Don) T. Moore	2x		82	Yunnan, Sino-japonés, India, Papua	Nainital (western Himalaya). Taiwan	Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. Pl. Syst. Evol. 129: 269-275.
<i>P. oculatum</i> J. B. Armstr.	4x	ca. 82	ca. 164	Nueva Zelanda	Wellington, Makara	Perrie L. R., P. J. Brownsey, P. J. Lockhart & M. F. Large. 2003. Evidence for an allopolyploid complex in New Zealand <i>Polystichum</i> (Dryopteridaceae). New Zealand J. Bot. 41: 189-215.
<i>P. ohmurae</i> Sa. Kurata	2x		82	Sino-japonés	Japan Japan, endemic mountain regions	Mitui, K. 1976. Chromosome studies on Japanese ferns (5). Bull. Nippon Dental Univ. Gen. Educ. 5: 133-140.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. omeiense</i> C. Chr.	2x	41	82	Yunnan, Sino-japonés	China, Wu-Shien-Kang,	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 14 (1): 1-42.
<i>P. orbiculatum</i> (Desv.) J.Rémy	2x		82	Antillas	Ecuador	Barrington, D. S. 2006. Cytological information for the genus <i>Polystichum</i> . (University of Vermont, Burlington, VT) Available at http://www.uvm.edu/~dbarring/polycytology.pdf . [Verified 14 Abril 2016]
<i>P. orbiculatum</i> (Desv.) J.Rémy	4x	ca.164		Maya, Antillas, Andes	Costa Rica, Sierra Talamanca. Cerro de la Muerte. San José y Cartago	Barrington, D.S. 1990. Hybridization and allopolyploidy in Central American <i>Polystichum</i> : cytological and isozyme documentation. Ann. Missouri Bot. Gard. 77: 297–305.
<i>P. otomasui</i> Sa. Kurata	2x		82	Yunnan, Sino-japonés	Kyusku/kyusyuu Japón	Lin S.-J., T. Suzuki, K. Iwatsuki, A. Ebihara & K. Iwatsuki. 2011. New record of <i>Polystichum otomasui</i> Sa Kurata (Dryopteridaceae) from Fujian Province, China. J. Japanese Bot. 86 (2): 115-119
<i>P. ovatopaleaceum</i> (Kodama) Sa. Kurata	3x y 4x		123, 164	Yunnan, Sino-japonés	Japón, China (Anhui)	Löve, A., D. Löve & R. E.G. Pichi Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta. Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).
<i>P. parvipinnulum</i> Tagawa	2x		82	Yunnan, Sino-japonés	Taiwan	Miyamoto, F. & T. Nakamura. Three new hybrids of <i>Polystichum</i> from Taiwan. J. Jap. Bot. 58: 146. 1983

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. piceopaleaceum</i> Tagawa			82	Yunnan, Sino-japonés	Taiwan , Himalaya	Matsumoto, S. & T. Nakaike. 1988. Chromosome numbers of some ferns in Kathmandu, Nepal. <i>Cryptog. Himalayas</i> 1: 177–185.
<i>P. piceopaleaceum</i> Tagawa	4x		164	Yunnan, Sino-japonés	Narkanda road, E. of Simla., Himachal Pradesh, NW. India	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). <i>Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot.</i> 14 (1): 1-42.
<i>P. plaschnickianum</i> (Kunze) T. Moore	2x	41	82	Antillas y Maya.	Jamaica	Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. <i>Pl. Syst. Evol.</i> 129: 269–275
<i>P. platyphyllum</i> (Willd.) C. Presl	2x		2n= 41 II	Antillas, Maya, Andes, Brazil.	Chiapas: 16 km NW de Rizo de Oro, SE de Cerro Baul.	Smith A. R. & J. T. Mickel. 1977. Chromosome counts for mexican ferns. <i>Brittonia</i> 29: 391-398.
<i>P. platyphyllum</i> (Willd.) C. Presl	4x		164	Antillas, Maya, Andes, Brazil.	El Tirol, Paraguay	Smith, A. R. & M. S. Foster. 1984. Chromosome numbers and ecological observations of ferns from El Tirol, Paraguay. <i>Fern Gazz.</i> 12: 321-329.
<i>P. polyblepharum</i> (Roem. ex Kunze) C. Presl	4x	82	164	Yunnan, Sino-japonés	China Jiangsu, Zhejiang; japan (Honsyu)	Yamamoto, A., M. Ishizuka & T. Nakaike. 1978. Studies in fern genus <i>Polystichum</i> II. A taxonomical study on <i>P. miuranum</i> at Jinmuji, Pref. Kanagawa. <i>Bull. Natl. Sci. Mus. Tokyo</i> , B 4: 71–82.
<i>P. prescottianum</i> (Wall. ex Mett.) T. Moore	2x		82	Yunnan, Sino-japonés, India	Khillanmarg; Kashmir; Pahlgam (Himalayas Occidental)	Khullar, S. P., S. S. Sharma & S. C. Verma. 1988. SOCGI plant chromosome number reports – VI. <i>J. Cytol. Genet.</i> 23: 38–52.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. prescottianum</i> (Wall. ex Mett.) T. Moore	2x	2n	82	Yunnan, Sino-japonés, India	Khillanmarg; Kashmir; Pahlgam (Himalayas Occidental). Afghanistan, Tibet	Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. <i>Pl. Syst. Evol.</i> 129: 269–275.
<i>P. proliferum</i> C. Presl	4x	82	164	Australia	Mt. Wilson, Blue Mtns, NSW. Australia	Tinda-Le, M. & S. K. Roy. 2002. A cytotaxonomic survey of the Pteridophyta of Australia. <i>Austr. Syst. Bot.</i> 15: 839-937.
<i>P. pseudomakinoi</i> Tagawa	4x		164	Yunnan, Sino-japonés	Japón. Chao-Lao-Dung and Yu-Shien-Sze, Omei Shan, Szechuan China	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). <i>Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot.</i> 14: 1–42.
<i>P. punctiferum</i> C. Chr.	2x		82	Yunnan	Yunnan (China),	Barrington, D. S. 2006. Cytological information for the genus <i>Polystichum</i> . (University of Vermont, Burlington, VT) Available at http://www.uvm.edu/~dbarrington/polycytology.pdf . [Verified 14 Abril 2016]
<i>P. pungens</i> (Kaulf.) C. Presl	8x		328	África	Langeberg Outeniqua Mountains Uzabara-Zululand	Roux, J. P. 2000. The genus <i>Polystichum</i> (Dryopteridaceae) in Africa. <i>Bull. Nat. Hist. Mus. Lond. (Bot.)</i> 30 (2): 33-79.
<i>P. retrosopaleaceum</i> (Kodama) Tagawa	2x		82	Sino-japonés	Korea, Japón	Mitui, K. 1976. Chromosome studies on Japanese ferns (5). <i>Bull. Nippon Dental Univ., Gen. Educ.</i> 5: 133–140.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. rigens</i> Tagawa	3x		123	Yunnan, Sino-japonés	Hubei, China. Japan	Barrington, D. S. 2006. Cytological information for the genus <i>Polystichum</i> (UVM, Burlington, VT) Available at http://www.uvm.edu/~dbarring/polycytology.pdf . [Verified 14 Abril 2016]
<i>P. scariosum</i> C.V.Morton	2x		82	Yunnan, Sino-japonés Papua	Amboyna, Yakushima	Barrington, D. S. 2006. Cytological information for the genus <i>Polystichum</i> . (UVM, Burlington, VT) Available at http://www.uvm.edu/~dbarring/polycytology.pdf . [Verified 14 Abril 2016]
<i>P. scopulinum</i> (D.C. Eaton) Maxon	4x		164	Norteamérica	Chelan, Washington Rocky Mountain	Barrington, D. S. 2006. Cytological information for the genus <i>Polystichum</i> . (UVM, Burlington, VT) Available at http://www.uvm.edu/~dbarring/polycytology.pdf . [Verified 14 Abril 2016]
<i>P. semifertile</i> (C.B. Clarke) Ching	2x	2n	82	India, Yunnan, Sino-japonés	Lebong forest, N. of Darjeeling, W. Bengal, India	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). <i>Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot.</i> 14 (1): 1-42.
<i>P. setiferum</i> (Forssk.) Moore ex Woyn.	2x		82	Europa. Islas del Atlántico	Circular Road, Gulmarg (Western Himalayas). Madeira. Devon, the Lake District and north Italy.	Queirós, M. & I. Nogueira. 1989. Estudos cromossómicos em Pteridophyta de Portugal. <i>Anales Jard. Bot. Madrid</i> 46 (2): 563–569.
<i>P. setigerum</i> C. Presl) C. Presl	6x		246	Norteamérica	Alaska	Wagner, D. H. 1979. Systematics of <i>Polystichum</i> in western North America and north of Mexico. <i>Pteridología</i> 1:1-64
<i>P. shimurae</i> Kurata ex Seriz.	4x		164	Yunnan, Sino-japonés	Japan	Löve, A., D. Löve & R. E. G. Pichi Sermolli. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta. Vol. 3 (Vadoz, J Cramer: Germany).
<i>P. silvaticum</i> Diels	4x	ca. 82	ca. 164	Nueva Zelanda	Wellington, New Zealand	Brownlie, G. 1958: Chromosome numbers in New Zealand ferns. <i>Trans. Royal Soc. New Zealand</i> 85: 213–216.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. speciosissimum</i> (A. Braun ex Kunze) Copel.	2x		82	Antillas y Maya	Costa Rica, Sierra Talamanca. Cerro de la Muerte. San José y Cartago provinces	Barrington, D. S. 1990. Hybridization and allopolyploidy in Central American <i>Polystichum</i> : cytological and isozyme documentation. Ann. Missouri Bot. Gard. 77: 297–305
<i>P. squarrosum</i> (D. Don) Fée	2x y 4x	ca. 80	164	Yunnan, Sino-japonés, India	Naini Khad, Dalhousie, Himachal Pradesh, NW. India,	Mehra, P. N. 1961. Cytological evolution of ferns with particular reference to Himalayan ferns. Proc. Indian Sci. Cong. Faltan datos
<i>P. squarrosum</i> (D. Don) Fée	4x		164	Yunnan, Sino-japonés, India	Simla (Western Himalayas). Shevaroy Hills, South India	Fraser-Jenkins, C. R. 1997. Himalayan Ferns (A Guide to <i>Polystichum</i>). International Booksellers, Dehra Dun, India.
<i>P. stenophyllum</i> Christ	2x	41	82	Yunnan, Sino-japonés, India	Emei Shan, Sichuan province, China	Wang, Z. & Q. Xia. 1984. Cytological observations on some species of <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> from China. Acta Bot. Sin. 26: 1–10.
<i>P. stimulans</i> (Kunze ex Mett.) Bedd.	2x		82	Yunnan, Sino-japonés, India	Khadralla, Simla (Western Himalayas)	Khullar, S. P., S. S. Sharma & S. C. Verma. 1988. SOCGI plant chromosome number reports – VI. J. Cytol. Genet. 23: 38–52.
<i>P. stimulans</i> (Kunze ex Mett.) Bedd.	4x		164	Yunnan, Sino-japonés	Sichuan China	Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. Pl. Syst. Evol. 129: 269–275.
<i>P. subinerme</i> Fraser-Jenk.	4x		164	India	India austr. Endémico	Manickam, V. S. & V. Irudayaraj. 1988. Cytology of Ferns of the Western Ghats (South India). 81 pp.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. tagawanum</i> Sa. Kurata	4x	82	164	Sino-japonés	Japón	Khullar, S. P. & S. C. Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. <i>Pl. Syst. Evol.</i> 129: 269–275.
<i>P. talamancaum</i> Barrington	4x	82	164	Antillas y Maya	Costa Rica, Sierra Talamanca. Cerro de la Muerte. San José y Cartago provinces	Barrington, D.S. 1990. Hybridization and allopolyploidy in Central American <i>Polystichum</i> : cytological and isozyme documentation. <i>Ann. Missouri Bot. Gard.</i> 77: 297–305.
<i>P. thomsonii</i> (Hook. f.) Bedd.	4x	82	164	Yunnan, Sino-japonés, India	Khadralla, Simla (Western Himalayas)	Khullar, S. P., S. S. Sharma & S. C. Verma. 1988. SOCGI plant chromosome number reports – VI. <i>J. Cytol. Genet.</i> 23: 38–52.
<i>P. transkeiense</i> N. Jacobsen	4x		164	África	South Africa (Cape province, Natal). Kwa Zulu-Natal Ngome Forest Cape, Uzabara-Zululand, Sudano-Zabezian	Kullar y Gupta. 1978. Cytotaxonomy of the genus <i>Polystichum</i> in the Western Himalayas. <i>Pl. Syst. Evol.</i> 129: 269–275.
<i>P. transvaalense</i> N. C. Anthony	4x		164	África	Transvaal Uzabara-Zululand, Sudano-Zabezian, Natal	Roux, J. P. 1997. The morphology and cytology of a new <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae) hybrid from South Africa. <i>Bot. J. Linn. Soc.</i> 124: 375–381.
<i>P. tridens</i> T. Moore ex Hook.) Fée	2x		82	Antillas y Maya	Jamaica	Walker, T. G. 1966. A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. <i>Trans. Royal Soc. Edinburgh</i> 66: 169–237.
<i>P. tripteron</i> (Kunze) C. Presl	2x	41	82	Yunnan	Jiangsu & Zhejiang China	Nakato, N., M. Kato & B. D. Liu. 1995. A cytotaxonomic study of some ferns from Jiangsu and Zhejiang Provinces, China. <i>J. Jap. Bot.</i> 70: 194–204.

Apéndice 2

Especie	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. tsus-simense</i> (Hook.) J. Sm.	3x		123	Yunnan, Sino-japonés	1900 m Yu-Shien Sze temple, Mt of 1000 temples, Omei Shan, China, Szechuan	Tsai, J. L. & W. C. Shieh. 1985. A cytotaxonomic survey of the fern family Aspidiaceae (sensu Copeland) in Taiwan. J. Sci. Engin. 22: 121–144.
<i>P. underwoodii</i> Maxon	4x	82	164	Antillas y Méjico	Jamaica	Walker, T. G. 1966. A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. Trans. Roy. Soc. Edinburgh 66:169–237.
<i>P. vestitum</i> (Sw.) C. Presl	4x		164	Nueva Zelanda	Neozelándico	Brownlie, G. 1958: Chromosome numbers in New Zealand ferns. Trans. Royal Soc. New Zealand 85: 213–216. [as <i>Polystichum richardii</i> (Hook.) J.Sm.] Dawson MI, Brownsey PJ, Lovis JD (2000) Index of chromosome numbers of indigenous New Zealand pteridophytes. New Zealand Journal of Botany 38, 25–46.
<i>P. walkerae</i> Sledge	2x		82	India	Sri Lanka	Mehra, P. N. 1961. Cytological evolution of ferns with particular reference to Himalayan ferns. Proc. Indian Sci. Cong. Presidential Address (part III) 48: 130-153.
<i>P. wawranum</i> Perrie	4x	ca. 82 biv	ca. 164	Nueva Zelanda	Wanganui, Pungarehu; Manawatu, Pohangin	Perrie L. R., P. J. Brownsey, P. J. Lockhart & M. F. Large. 2003. Evidence for an allopolyploid complex in New Zealand <i>Polystichum</i> (Dryopteridaceae). New Zealand J. Bot. 41: 189-215.
<i>P. whiteleggei</i> Watts	4x		ca. 164	Australia	Lord Howe. NSW Noreste de Australia	Tindale, M. 2002. In M. D. Tindale & S. K. Roy, A cytotaxonomic survey of the Pteridophyta of Australia. Austral. Syst. Bot. 15: 839–937.
<i>P. wilsonii</i> Christ	4x		164	Yunnan, Sino-japonés, Guineo-Congoliano, Madagascar & mascarenses, India	Cape mountains, Taiwan	Khullar, S. P., S. S. Sharma & S. C. Verma. 1988. SOCGI plant chromosome number reports – VI. J. Cytol. Genet. 23: 38–52.

Apéndice2

Espece	x	n	2n	Centros de diversidad	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>P. xiphophyllum</i> (Baker) Diels	3x		123	Yunnan, Sino-japonés	Hong-Chun-Ping and Chao-Lao-Dung, Mt of 1000 temples, Omei Shan, Szechuan, China	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 14 (1): 1-42.
<i>P. yunnanense</i> Christ	4x		164	Este de Asia, India	Omei Shan, Szechuan, China	Gibby, M. 1985. Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese <i>Dryopteris</i> and <i>Polystichum</i> (Pteridophyta: Dryopteridaceae). Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot. 14: 1-42

Apéndice 3

Tabla de caracteres morfológicos empleada en el análisis multivariado, con los datos de herbario de los especímenes.

Polystichum spp.	Número espécimen (herbario)	Ancho escama pecíolo	Ancho base lámina	Ancho lámina porción media	Ancho pinna media	Distancia entre pinnas	Longitud escama pecíolo	Longitud fronde	Longitud lámina	Longitud pinna basal	Longitud pinna media	Pares de pinnas	Pares de pínulas	Pinnas fértiles
andinum	6175 SI	2	7	7	5	3	5	8,5	6	6	7	24	0	18
andinum	60476 SI	2,66	9	10	6	5	6	8	5,5	8	9	10	0	4
andinum	69531 SI	2,16	9	9	4	2	7	9	6,5	8	7	23	0	18
andinum	2155 LP	2,18	10	10	4	2	5,75	11,5	6,5	6	6	20	0	16
andinum	10126 LP	2,87	13	12	4	2	4,5	11,5	5,5	6	6	23	0	21
andinum	3567 LP	2,37	14	14	5	2	5	9	7,5	8	9	20	0	20
andinum	56431 BA	1,95	11	9	3	1	5	5,5	4,3	5	4	18	0	18
andinum	10649 BA	1,95	12	9	5	2	6,75	9	6,5	7	6	23	0	21
andinum	159023 CONC	2,37	12	15	7	2,5	7,2	11,5	9	12	11	27	0	15
andinum	126884 CONC	2,64	8	7	3	1	6,7	9	6	5	5	25	0	22
chilense	6284 SI	5,75	70	120	18	15	24,17	60	20	40	70	25	12	8
chilense	159612 CONC	5,2	110	115	14	17	14,3	51	34	40	70	26	13	7
chilense	149561 CONC	4,8	40	90	15	10	16,7	44	32	18	25	29	7	4
chilense	148653 CONC	5,25	80	160	20	14	16,5	70	42	70	90	33	17	9
chilense	149596 CONC	4,85	100	140	15	15	14,25	76	50	70	75	31	14	28
chilense	60497 SI	4	60	90	10	13	14,6	30	23	35	45	20	13	12
chilense	12798 BA	4,2	50	120	16	17	12,6	42	35	30	80	25	12	16
chilense	12035 BA	5,6	60	90	12	15	21,25	52	32	35	55	23	12	16
chilense	82825 BA	4	40	95	12	13	15,25	35	28	15	45	23	8	16

Apéndice 3

Polystichum spp.	Número espécimen (herbario)	Ancho escama pecíolo	Ancho base lámina	Ancho lámina porción media	Ancho pinna media	Distancia entre pinnas	Longitud escama pecíolo	Longitud fronde	Longitud lámina	Longitud pinna basal	Longitud pinna media	Pares de pinnas	Pares pinnulas	Pinnas fértiles
<i>dusenii</i>	50845 CONC	4	60	160	20	20	13	44	33	48	80	23	13	15
<i>dusenii</i>	45071 CONC	4,2	110	185	22	22	15	62	46	50	90	24	15	14
<i>dusenii</i>	87629 CONC	4,6	120	200	25	30	17	90	68	60	100	30	18	17
<i>dusenii</i>	413 LP	4,5	45	150	18	20	22	67	47	50	75	27	12	13
<i>dusenii</i>	1202 LP	5	100	230	20	25	17,5	86	61	60	110	30	16	15
<i>dusenii</i>	60490 SI	4,5	70	140	15	18	17,5	66	46	56	70	30	17	16
<i>dusenii</i>	6 LP	6	56	120	22	20	19	60	44	30	60	23	9	13
<i>dusenii</i>	1496 LP	5	70	140	20	20	18,5	63	43	45	70	21	11	13
<i>dusenii</i>	60491 SI	5,5	70	200	18	20	20	54	46	45	100	35	18	20
<i>dusenii</i>	13399 BA	5	80	200	25	25	24	120	84	60	100	38	18	25
<i>dusenii</i>	430840 LIL	5,3	100	210	30	25	23,5	110	80	60	100	37	19	22
<i>dusenii</i>	391 CORD	5	160	240	25	30	23	69	52	85	125	32	19	10
<i>dusenii</i>	397 CORD	5	90	200	20	20	22	76	65	55	105	45	17	18
<i>mohrioides</i>	60530 SI	3,75	14	18	6	3	7	11	6,5	10	9	20	0	16
<i>mohrioides</i>	509 LP	2,75	28	28	8	4	5,8	15	9	11	12	17	0	12
<i>mohrioides</i>	66525 SI	2,6	13	15	8	4	6	17,5	9,5	10	12	23	0	20
<i>mohrioides</i>	91893BA	2,8	27	30	10	5	12	27	15	10	15	32	0	20
<i>mohrioides</i>	SG 20 VT	3	27	30	12	7,5	6,2	26	15	13	17	30	0	26
<i>mohrioides</i>	548 VT	2,9	44	45	11	6	8,5	35	17	10	20	19	0	16
<i>mohrioides</i>	60525 SI	3,12	28	30	13	5	8,5	27	17	14	17	31	0	28
<i>mohrioides</i>	K 00064909	3,37	34	35	15	7	10,5	26	16	8	20	21	0	17
<i>mohrioides</i>	K 00064910	3,62	28	30	10	7	9,8	22	14,5	8	15	21	0	17

Apéndice 3

Polystichum spp.	Número espécimen (herbario)	Ancho escama pecíolo	Ancho base lámina	Ancho lámina porción media	Ancho pinna media	Distancia entre pinnas	Longitud escama pecíolo	Longitud fronde	Longitud lámina	Longitud pinna basal	Longitud pinna media	Pares de pinnas	Pares pinnulas	Pinnas fértiles
<i>multifidum</i>	45076II	5,91	100	230	30	25	17,33	81	41	8	110	24	17	20
<i>multifidum</i>	96221	6,33	140	270	33	33	18,16	120	80	12	140	36	23	33
<i>multifidum</i>	161928	7,5	90	250	25	25	23,66	95	53	10	120	27	21	23
<i>multifidum</i>	45154	6	80	170	24	15	21,83	58	48	12	85	28	17	25
<i>multifidum</i>	37292	5,8	60	190	17	20	16,6	77	53	13	90	35	19	34
<i>multifidum</i>	430840	7,5	100	230	28	30	15,66	111	70	14	115	36	19	33
<i>multifidum</i>	66917	5,7	120	200	35	35	14,6	80	62	10	100	26	16	23
<i>multifidum</i>	60499	6,5	50	130	18	18	14,77	50	35	10	65	25	13	22
<i>multifidum</i>	60503	5,8	120	200	30	40	15,57	89	52	11	100	27	13	24
<i>multifidum</i>	48374	5,9	100	200	30	28	16	78	68	11	100	28	17	24
<i>multifidum</i>	1845	6,3	90	160	25	25	14,8	56	43	10	80	25	15	22
<i>plicatum</i>	236 CORD	3,5	15	35	10	7	17,6	27	24	8	20	29	7	11
<i>plicatum</i>	1723 CORD	3,5	32	60	13	10	11,5	35	27	17	35	29	7	12
<i>plicatum</i>	55799 SI	4,2	15	35	10	10	12,3	35	29	14	30	24	7	11
<i>plicatum</i>	545 LP	3,9	14	40	10	10	11,3	44	34	14	35	30	6	12
<i>plicatum</i>	11181 CORD	3,5	18	50	17	18	11,7	68	44	15	60	31	7	17
<i>plicatum</i>	241 CORD	4,3	20	120	17	20	16,7	54	36	20	60	20	6	8
<i>plicatum</i>	2404 CORD	4,4	20	75	14	20	13	56	43	15	40	33	6	17
<i>plicatum</i>	260 CORD	4,4	30	20	17	20	10,5	64	44	22	50	27	7	14
<i>plicatum</i>	242CORD	5,4	30	55	13	10	11	30	20	22	30	25	6	14

Apéndice 3

Polystichum spp.	Número espécimen (herbario)	Ancho escama pecíolo	Ancho base lámina	Ancho lámina porción media	Ancho pinna media	Distancia entre pinnas	Longitud escama pecíolo	Longitud fronde	Longitud lámina	Longitud pinna basal	Longitud pinna media	Pares de pinnas	Pares pínulas	Pinnas fértiles
<i>subintegerrimum</i>	1010 LP	4	175	200	22	22	13,5	63	33	80	85	21	10	14
<i>subintegerrimum</i>	35331 CONC	4,2	75	80	14	13	13,17	46	26	35	45	19	6	19
<i>subintegerrimum</i>	6005 LP	3,2	140	140	17	9	15,2	51	26	75	70	20	9	18
<i>subintegerrimum</i>	20049 CONC	3,2	85	95	10	12	13,6	34	21	35	35	14	8	13
<i>subintegerrimum</i>	35337 CONC	2,9	130	130	12	17	13,2	42	28	70	66	17	6	13
<i>subintegerrimum</i>	157493 CONC	3,5	110	145	12	18	13,7	90	42	75	70	23	9	20
<i>subintegerrimum</i>	157588 CONC	4,6	70	110	10	17	17	49	32	65	62	26	6	20
<i>tetragonum</i>	112183 CONC	4,5	80	170	23	18	20,6	68	27	100	115	33	18	33
<i>tetragonum</i>	326 CORD	4,8	80	150	13	8	19,5	48	27	65	75	22	13	22
<i>tetragonum</i>	323 CORD	5,3	220	270	28	30	22	100	52	140	130	22	20	22
<i>tetragonum</i>	52605 CONC	4,5	240	300	32	30	20,6	108	70	100	190	33	20	33
<i>tetragonum</i>	52568 CONC	4,7	120	250	20	20	21,2	80	58	30	135	36	21	36
<i>tetragonum</i>	116463 CONC	4,6	100	200	25	25	20,3	66	46	90	120	23	16	23
<i>tetragonum</i>	290 CONC	5,3	120	300	26	30	21,2	106	74	90	110	27	17	27
<i>tetragonum</i>	121938 CONC	5,4	100	240	24	18	22,25	67	43	140	130	25	16	25
<i>tetragonum</i>	116499 CONC	6	100	250	25	5	21	62	40	100	125	24	18	24

Apéndice 4

Lista de especies de *Polystichum*, muestras estudiadas, especímenes de referencia, procedencia y marcadores amplificados

Las muestras corresponden a especímenes depositados en el Herbario Museo Botánico Córdoba (CORD), con excepción de dos procedentes de especímenes depositados en el Herbario de la Universidad de Concepción (Chile) y tres en el Herbario Kew (Inglaterra), indicadas en la tabla con la abreviatura correspondiente (CONC y K, respectivamente).

Taxón	Espécimen de referencia	Procedencia	trns-rps4	trnL-trnF	rbcl	rps4
<i>Polystichum andinum</i>	Morero 291	Argentina. Prov. de Río Negro. Dpto. Bariloche. Parque Nacional Nahuel Huapi. C° López, pasando 200 m el refugio, camino hacia "La Olla"	X	X	X	X
<i>P. chilense</i>	Morero 308	Argentina. Prov. de Neuquén. Parque Nac. Nahuel Huapi. Cascada Santa Ana. Dpto. Los Lagos. .	X	X	X	X
<i>P. plicatum</i>	Morero 293	Argentina. Prov. de Río Negro. Dpto. Bariloche. Parque Nacional Nahuel Huapi. C° López. Alrededores del refugio.	X	X	X	X
	Morero 302	Argentina. Prov. de Neuquén. Dpto. Los Lagos. Villa La Angostura. Sendero a Cascada Inacayal.	X	X	X	X
<i>P. mohrioides</i>	1596, 1582, 1604 (K)	Islas Malvinas. Isla Soledad	X	X	X	X
<i>P. montevidense</i>	Morero 349	Argentina. Pcia. de Tucumán. Dpto. Chicligasta. Cuesta del Clavillo	X	X	X	X

Apéndice 4

Taxón	Espécimen de referencia	Procedencia	trns-rps4	trnL-trnF	rbcl	rps4
<i>P. subintegerrimum</i>	Morero 371	Argentina. Prov. de Chubut Parque Nac. Lago Puelo. El Bolsón.	X	X	X	X
	Morero 251	Argentina. Prov. de Río Negro. Dpto. Bariloche. Lago Nahuel Huapi. Pto. Blest Ingreso a la Cascada Los Cántaros, a orillas del sendero.	X	X	X	X
	CONC 166065	Chile. Prov. Aysén. Río Blanco.	X	X		X
	CONC Carrasco 40	Chile. Prov. Concepción, Depto. Talcahuano, Parque Hualpén.	X	X		X
<i>P. platyphyllum</i>	Morero 352	Argentina. Prov. de Tucumán. Dpto. Chicligasta. Cuesta del Clavillo	X	X	X	X
<i>P. tetragonum</i>	Morero 325	Chile. Archipiélago Juan Fernández. Isla Robinson Cruose. Bosque La Plazoleta. El Yunque.	X	X	X	X
<i>P. multifidum</i> var. <i>pearcei</i>	Morero 317	Argentina. Prov. de Chubut. Parque Nacional Lago Puelo. Arroyo Melo.	X	X	X	X
<i>P. multifidum</i>	Morero 306	Argentina. Prov. de Neuquén. Dpto. Los Lagos. Pque. Nac. Nahuel Huapi. Cascada Santa Ana.	X	X	X	X

Apéndice 5

Matriz morfológica de datos utilizada en la reconstrucción de caracteres ancestrales.

Especies	Ploidía	Forma de la lámina	Extremo de la lámina	Disposición de las pinnas basales	Espínulas marginales en los segmentos	Indusio	Cilios en las escamas peciolares	Bulbillos
Estados de caracteres	Diploide 0 tetraploide 1 octoploide 2	Linear 0; lanceolada 1 elíptica ancha 2	Breve 0; acuminado 1 pinnatífido 2	Descendentes 0 perpendiculares 1 ascendentes 2	Ausentes 0 fuertes 1 débiles 2	Ausente 0 presente 1 a veces presente 2	Ausentes 0 presentes 1	Ausentes 0 presentes 1
<i>P. tripteron</i>	0	1	2	2	2	1	0	0
<i>P. acrostichooides</i>	0	1	2	0	2	1	0	0
<i>P. altum</i>	?	1	1	2	1	2	0	0
<i>P. andinum</i>	1	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. caudescens</i>	?	2	1	1	2	0	1	1
<i>P. chilense</i>	1	2	2	0	1	1	0	0
<i>P. chunii</i>	0	1	2	1	2	1	0	1
<i>P. concinnum</i>	0	2	2	1	1	1	1	0
<i>P. cystostegia</i>	1	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. disyunctum</i>	?	2	1	2	2	1	0	1
<i>P. dubium</i>	0	1	1	1	0	0	0	0
<i>P. dudleyi</i>	0	1	2	0	2	1	1	0
<i>P. fallax</i>	1	1	2	0	1	1	0	0
<i>P. hartwegii</i>	0	2	1	1	2	1	1	0
<i>P. lehmannii</i>	?	1	1	0	2	0	1	0
<i>P. lemmonii</i>	0	0	1	1	1	1	0	0
<i>P. lentum</i>	0	0	2	0	2	1	0	1
<i>P. lonchitis</i>	0	0	1	1	2	1	0	0
<i>P. longipaleatum</i>	0	1	1	2	1	0	0	0

Apéndice 5

Especies	Ploidía	Forma de la lámina	Extremo de la lámina	Disposición de las pinnas basales	Espínulas marginales en los segmentos	Indusio	Cilios en las escamas peciolares	Bulbillos
Estados de caracteres	Diploide 0 tetraploide 1 octoploide 2	Linear 0; lanceolada 1 elíptica ancha 2	Breve 0; acuminado 1 pinnatífido 2	Descendentes 0 perpendiculares 1 ascendentes 2	Ausentes 0 fuertes 1 débiles 2	Ausente 0 presente 1 a veces presente 2	Ausentes 0 presentes 1	Ausentes 0 presentes 1
<i>P. montevidense</i>	0	2	2	0	2	0	1	0
<i>P. multifidum</i>	1	2	2	0	1	1	0	0
<i>P. munitum</i>	0	1	1	1	2	1	0	0
<i>P. orbiculatum</i>	0	0	1	2	1	0	1	0
<i>P. platyphyllum</i>	0	2	2	0	2	0	1	1
<i>P. plicatum</i>	1	0	1	1	0	1	0	0
<i>P. proliferum</i>	1	1	2	0	1	1	0	1
<i>P. punctiferum</i>	0	2	1	1	2	1	1	0
<i>P. pungens</i>	2	2	2	0	0	1	0	0
<i>P. rhizophyllum</i>	?	0	2	0	0	1	0	1
<i>P. scopulinum</i>	1	0	1	1	2	1	1	0
<i>P. semifertile</i>	0	2	1	1	2	1	0	0
<i>P. stenophyllum</i>	0	0	2	1	2	1	0	1
<i>P. subintegerrimum</i>	2	1	2	0	1	1	0	0
<i>P. talamancanum</i>	1	1	2	2	2	0	1	0
<i>P. tetragonum</i>	1	2	2	0	1	1	0	0
<i>P. transkeiense</i>	1	2	2	0	?	1	0	0
<i>P. vestitum</i>	1	1	2	0	2	1	0	0

Apéndice 6. Cuadro comparativo de la identidad asignada históricamente a *P. mohrioides*, *P. plicatum* y *P. andinum* (nombres actuales). Cada fila corresponde a un autor (con el año de la/s publicación/es de referencia). Las líneas verticales gruesas separan especies y las delgadas taxones infraespecíficos.

Autores	<i>P. andinum</i> Phil.	<i>P. mohrioides</i>(d'Urv.) C. Presl	<i>P. plicatum</i> (Poepp. ex Kunze) Hicken ex Hosseus
Gay 1863			<i>P. elegans</i>J.Rémy
Christ 1905	<i>P. andinum</i>Phil.		<i>P. mohrioides</i> (d'Urv.) Presl
Hicken 1906, 1907		<i>P. mohrioides</i> (d'Urv.) Presl fo. <i>genuina</i>Hicken	fo. <i>latifolia</i>Hicken
Christensen 1910	var. <i>typicum</i>	<i>P. mohrioides</i> (d'Urv.) Presl var. <i>plicatum</i>(Poepp.) C. Chr.	var. <i>elegans</i>(J.Rémy) C. Chr.
Hicken ex Hosseus 1915	<i>P. plicatum</i>(Poepp.) Hicken	<i>P. mohrioides</i>(Bory) Presl.fo. <i>genuina</i>Hicken	
Looser 1939,1945, 1968	var. <i>plicatum</i>(Poeppig) C. Chr.	<i>P. mohrioides</i> (Bory) Presl var. <i>mohrioides</i>	var. <i>elegans</i>(J.Rémy) C. Chr.
Diem 1958	<i>P. plicatum</i>(Poepp) Hicken	<i>P. mohrioides</i>(d'Urv.) Presl var. <i>typicum</i>	var. <i>elegans</i>(J.Rémy) C. Chr.
Pichi Sermolli & Bizarri 1978	<i>P. andinum</i>(Phil)	<i>P. mohrioides</i> (d'Urv.) Presl var. <i>mohrioides</i>	var. <i>elegans</i>(J.Rémy) C. Christensen
Rodríguez Ríos 1987	<i>P. andinum</i> Phil.	<i>P. mohrioides</i> (d'Urv.) C. Presl	<i>P. plicatum</i> (Poepp. ex Kunze) Hicken ex Hosseus

