

Un nuevo poliploide de *Blechnum occidentale* (*Blechnaceae*-Polypodiopsida) para el noroeste de la Argentina

Graciela E. González¹, Carmen Prada² y Cristina H. Rolleri³

Recibido: 18 enero 2016 / Aceptado: 15 febrero 2016

Resumen. Se llevó a cabo un detallado estudio citológico de las células madres de las esporas de ejemplares de *B. occidentale* procedentes del noroeste de la Argentina. Los resultados de esta contribución permiten dar a conocer un nuevo poliploide, en este caso un hexaploide, cuyo número básico se analiza y discute, estimándose como más probable en $x=31$. Los datos obtenidos sugieren un origen alopoliploide, es decir, este citotipo nuevo sería producto de hibridación interespecífica y posterior duplicación cromosómica. En el curso del estudio se observó también una notable estabilidad en los rasgos esporangiales, que se consideran diagnósticos en el nivel específico e independiente de la ploidía.

Palabras clave: helecho hexaploide; número cromosómico; caracteres esporangiales.

[en] A new polyploid of *Blechnum occidentale* (*Blechnaceae*-Polypodiopsida) for the northwest of Argentina

Abstract. A detailed cytological study of the spore mother cells of specimens of *B. occidentale* collected in locations from the northwest of the Argentina was carried out here. The results of this contribution allowed to report a new polyploid, in this case a hexaploid, whose most probably basic number was considered $x=31$, and which origin is analyzed and discussed. The study suggests an allopolyploid origin of this new cytotype which would be a product of interspecific hybridization and later chromosomal duplication. In the course of the study a notable stability was observed in the sporangial characters that are considered to be diagnostic at the specific level, and independent from the ploidy.

Keywords: hexaploid fern; chromosome number; sporangial characters.

Cómo citar: González, G. E.; Prada, C. & Rolleri, C. H. 2016. Un nuevo poliploide de *Blechnum occidentale* (*Blechnaceae*-Polypodiopsida) para el noroeste de la Argentina. *Bot. complut.* 40: 53-61.

Introducción

Blechnum L. s.l. (*Blechnaceae*) es un género cosmopolita que comprende unas 200 especies (Rolleri & Prada 2006, Rothfels *et al.*

2012). En América se encuentra en los Estados Unidos de América, Mesoamérica, Antillas y Sudamérica (Rolleri & Prada 2006). En la Argentina viven unas 21 especies (Ponce 1996) distribuidas en las selvas tropicales y

¹ Departamento de Ecología, Genética y Evolución (LACYE), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (Argentina)

E-mail: mamilila@yahoo.com

² Departamento de Biología Vegetal I, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid (España)

E-mail: cpm@bio.ucm.es

³ Laboratorio de Estudios de Anatomía Vegetal Evolutiva y Sistemática (LEAVES), Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata 64 entre 120 y diagonal 113, B1904 DZB, La Plata (Argentina)

subtropicales del noroeste y noreste del país, en áreas valliserranas y roquedales húmedos del arco peripampásico (Frenguelli 1936, 1950), es decir, la zona serrana que abarca las Sierras Subandinas del Noroeste, las Sierras Pampeanas Centrales, el macizo hipogeo de La Pampa y las sierras Australes de la Provincia de Buenos Aires (Tandil y Sistema de Ventania), en los bosques hiperhúmedos andino-patagónicos y subantárticos de Tierra del Fuego, y en las Islas Malvinas.

Las especies monomorfas y subdimorfas de este género se encuentran ampliamente distribuidas en zonas tropicales y templadas del hemisferio Sur (Rolleri et al. 2012). *Blechnum occidentale* L. tiene una distribución muy amplia, desde Estados Unidos, México, Mesoamérica, Antillas y hasta Sudamérica, en Colombia, Venezuela, Guayanas, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, Paraguay, Chile y Argentina (Rolleri et al. 2012). Crece en India, Australia y Hawái (Motooka et al. 2003), donde es considerado una maleza.

Los caracteres cariotípicos de un organismo son la expresión fenotípica más inmediata del genoma, y son independientes de efectos externos (medio ambiente, etapas del desarrollo, efectos epigenéticos, etc.) que puedan distorsionarlos (Guerra 2015). De estos caracteres, el número cromosómico es el más empleado en estudios de citotaxonomía, porque suministra información sustancial acerca de los niveles de ploidía, la estructura y la diversidad de los genomas de una especie (Walker 1966), por lo que su conocimiento es importante a la hora de encarar estudios sistemáticos y filogenéticos.

Los helechos homosporados tienen números cromosómicos extremadamente altos en relación con los que se conocen para las plantas con flores, una condición atribuida a numerosos eventos de hibridación y poliploidía (Barker 2013). Sin embargo, los análisis electroforéticos de proteínas que utilizan el número de isoenzimas por sistema enzimático para calcular el nivel de ploidía, demostraron que muchas especies con altos números cromosómicos presentan patrones de expresión génica típica de organismos diploides (Haufler 1987, Soltis & Soltis 1987). Esta incon-

gruencia entre los datos cariológicos y los isoenzimáticos puede ser explicada ya sea porque los helechos homosporados son diploides con altos números cromosómicos en su origen o, más probablemente, porque la constitución genómica actual de los taxa existentes es el resultado de ciclos repetidos de poliploidía seguidos de diploidización cromosómica, silenciamiento génico y extinción de los progenitores diploides (Haufler 1987, 2014, Haufler & Soltis 1986, Gastony 1991, Barker 2013). Esta última explicación fue corroborada mediante análisis de mapeo de ligamiento genético en *Ceratopteris richardii* (Nakazato et al. 2006).

En una revisión reciente, Rothfels et al. (2012) recopilaron los números básicos de *Blechnaceae*, indicando: $x=27$ para *Pteridoblechnum*, $x=29, 31, 33, 34$ y 36 para *Blechnum*, $x=32$ para *Doodia*, $x=33$ para *Sadleria*, $x=34$ y $x=35$ para *Woodwardia*, $x=35$ para *Brainea*, $x=37$ para *Stenochlaena* y $x=40$ para *Salpichlaena*, mientras que Chambers & Farrant (1998) y Tindale & Roy (2002) reportaron $x=28, 32$ y 37 para *Blechnum* de Australia.

En el caso del género *Blechnum*, Manton (1950), Quinn (1961), Walker (1966), Löve et al. (1977), Smith & Mickel (1977), Smith & Foster (1984), Jara-Seguel et al. (2006), Dawson et al. (2000), Tindale & Roy (2002) y González et al. (2010), entre otros, han dado a conocer los números cromosómicos de unas 25 especies y han citado varios niveles de ploidía, desde diploides ($2x$) hasta hexaploides ($6x$).

Los estudios citológicos de las especies de *Blechnum* que se distribuyen en el Cono Sur son escasos. De la Sota y Cassá de Pazos (1983) reportaron los números cromosómicos de *B. hastatum* Kaulf. ($2n=62$), *B. australe* subsp. *auriculatum* (Cav.) de la Sota ($2n=124$) y *B. levigatum* Cav. ($2n=124$). Jara-Seguel et al. (2006) registraron $2n=66$ para cuatro especies de Chile: *B. chilense* (Kaulf.) Mett., *B. hastatum* Kaulf., *B. mochaenum* Kunkel subsp. *mochaenum* y *B. penna-marina* (Poir.) Kunth. Más recientemente, González et al. (2010) reportaron un conteo cromosómico de *B. hastatum* ($2n=66, x=33$).

En lo que respecta a *Blechnum occidentale* los números cromosómicos registrados hasta el momento son: $2n=124$ (Walker 1973, 1985, Kurita 1986, Marcon *et al.* 2003), $n=62$ (Smith & Mickel, 1977) y $n=c. 93$ (Smith & Foster 1984) para el material americano. Ghatk (1977) registró $2n=124$, mientras que Ammal & Bhavanandan (1988) reportaron un tetraploide estéril, ambos para el Sur de India. También se han descrito y catalogado un cierto número de híbridos que involucran a *B. occidentale* y especies monomorfas y dimorfas relacionadas (Walker 1966, 1985; de la Sota & Cassá de Pazos 1983, Mickel & Beitel 1988, Moran 1995, Kasmirczak 1999, Rolleri & Prada 2006).

El objetivo de este trabajo es un estudio citológico de las células madres de las esporas de ejemplares de *B. occidentale* del noroeste de la Argentina, con el fin de dar a conocer el número cromosómico y el nivel de ploidía, así como también analizar todas las etapas de la meiosis. Se incluye adicionalmente, un análisis ilustrado del desarrollo del leptosporangio, que permitió actualizar estudios previos (González *et al.* 2010) en relación con el valor diagnóstico de los caracteres de esta estructura que, según lo observado, también podrían considerarse independientes de la eventual ploidía de la especie.

Materiales y Métodos

Los estudios se efectuaron en especímenes de *B. occidentale* recolectados en los bosques subtropicales del noroeste de la Argentina. Los ejemplares utilizados se encuentran depositados en el herbario del Real Jardín Botánico de Madrid, España, y son los siguientes: **Argentina: Tucumán:** carretera de Tafi del Valle, entrada a la Reserva de la Quebrada de Los Sosa, en taludes muy húmedos cerca del puente sobre el arroyo, 700 m, Prada & Gallardo s.n. (MA). Subida desde San Pablo a Villa Nougés, 1200 m, Prada & Gallardo s.n. (MA). Parque de San Javier, cerca de la Residencia Universitaria, 1350 m, Prada & Gallardo s.n. (MA).

Para los recuentos cromosómicos el material se obtuvo de pinnas tenuales de fron-

das jóvenes que se fijaron en una solución 3:1 de alcohol etílico absoluto y ácido acético a 4 °C por 24 horas como mínimo; luego se pasaron a alcohol etílico al 70% y se almacenaron a 4 °C hasta su estudio. Las preparaciones citológicas se realizaron raspando los esporangios sobre portaobjetos con una gota de hematoxilina acética al 2% y luego de 30 minutos se aplastaron y se observaron los meiocitos en un microscopio óptico de luz directa. Los recuentos cromosómicos se efectuaron sobre una muestra mínima de 20 meiocitos por individuo en estado de Diacinesis. Para documentar el resto de los estados meióticos se analizaron, de cada individuo estudiado, al menos 15 meiocitos por estado. Los esporangios, muy abundantes y en diversos grados de desarrollo se colorearon colocándolos sobre una gota de hematoxilina acética al 2%. Los términos utilizados para describir la morfología externa e interna son los empleados en trabajos previos (Lellinger 2002, González *et al.* 2010). Las preparaciones se examinaron con un microscopio Leica DMLB y las microfotografías se tomaron con una cámara digital (CCD, Leica). Las imágenes fueron tratadas con el programa Adobe Photoshop CS2 v 9.0 (Adobe Systems Incorporated, San José, USA).

Resultados

En el conteo cromosómico los meiocitos analizados en diacinesis mostraron *c.* 93 bivalentes ($2n = 6x = 186$) (Fig. 1A-C). Algunos de estos bivalentes abiertos y otros cerrados (Fig. 1B-C). Se observaron bivalentes de dos tamaños (Fig. 1B-C). En la etapa de Metafase I no se observaron cromosomas fuera de la placa metafásica (Fig. 1D). En anafase I la migración fue regular y al final de la telofase I se observaron díadas balanceadas. Las etapas de meiosis II también fueron regulares, sin la presencia de micronúcleos en la telofase II y con la formación de tétradas balanceadas.

Blechnum occidentale presenta leptosporangios con cápsulas esferoidales a elipsoidales, con anillo longitudinal formado por células con engrosamientos en U, región del

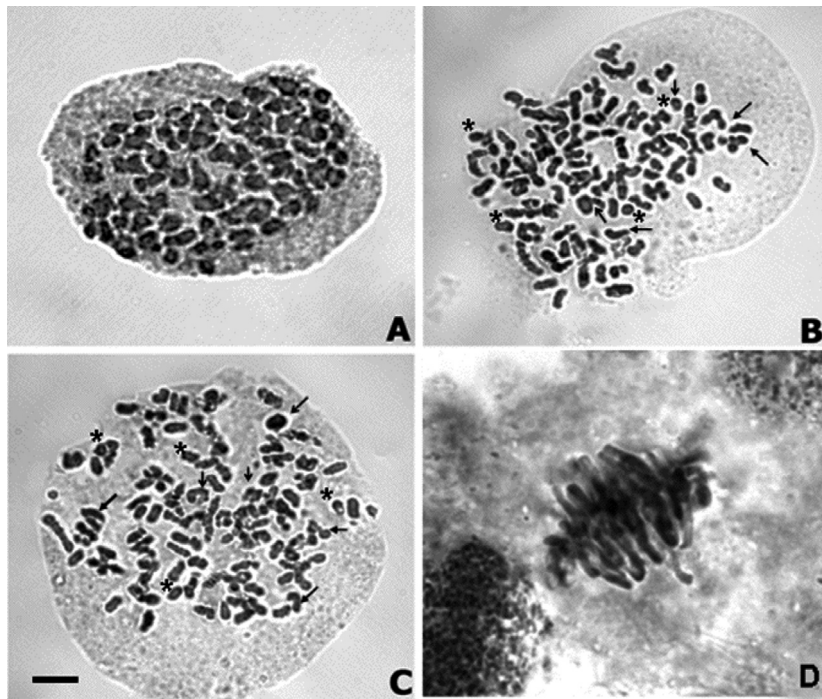


Figura 1. Meiocitos de *Blechnum occidentale*. **A-C**: células en Diacinesis con c.93 bivalentes. **B-C**: bivalentes abiertos (flechas cerradas), cerrados (flechas abiertas) y bivalentes de menor tamaño (asteriscos). **D**: etapa de Metafase I, sin cromosomas fuera de la placa metafásica. Barra: A-C: 10 μ m, D: 20 μ m.

estomio integrada por células de apertura o labios, células epistomiales e hipostomiales y una roseta de cuatro células intercala entre cápsula y pedicelo. La roseta se desprende juntamente con la cápsula en la dehiscencia y naturaleza y reacciones de color de sus células coinciden con las de la cápsula. Los pedicelos son largos, algo curvados, con una longitud de 640-660 μ m y una anchura de 40-45 μ m. Las etapas del desarrollo de los esporangios se pueden observar con facilidad ya que éstos se forman asincrónicamente y coexisten las etapas juveniles con leptosporangios adultos (Fig. 2A). Se originan a partir de una división oblicua o transversal de una célula epidérmica situada sobre la comisura o sobre el indusio; de las dos primeras células así producidas, la basal dará origen al pedicelo y la apical a la cápsula. Las mitosis subsiguientes generan las células parietales estériles, que delimitarán la célula o células que originarán el tejido espo-

rógeno y un tapete uniestratificado. Los leptosporangios inmaduros presentan un pedicelo corto, poco diferenciado y una cápsula más o menos esférica con células que tienen paredes delgadas (Fig. 2B-E). La zona basal que formará el pedicelo tiene 8-10 células isodiamétricas con las mismas características morfológicas, y entre el pedicelo y la cápsula queda delimitada la roseta (Fig. 2D-F). El pedicelo crece rápidamente hasta alcanzar, en estado adulto, 27 (30) células, en 3 hileras de 9-10, con una relación l/a de 5-6:1 o más y suele romperse con facilidad (Fig. 2E, G-H). El tejido esporógeno se visualiza como una masa central mientras se desarrolla el anillo vertical (Fig. 2F-I) y a medida que se desarrollan las células madres de esporas en el arquesporio se degrada el tapete (Fig. 2F) y queda delimitada el área estomial con unas 6-8 células (Fig. 2G-H). La cápsula madura tiene una pared bien formada, un anillo vertical con células con

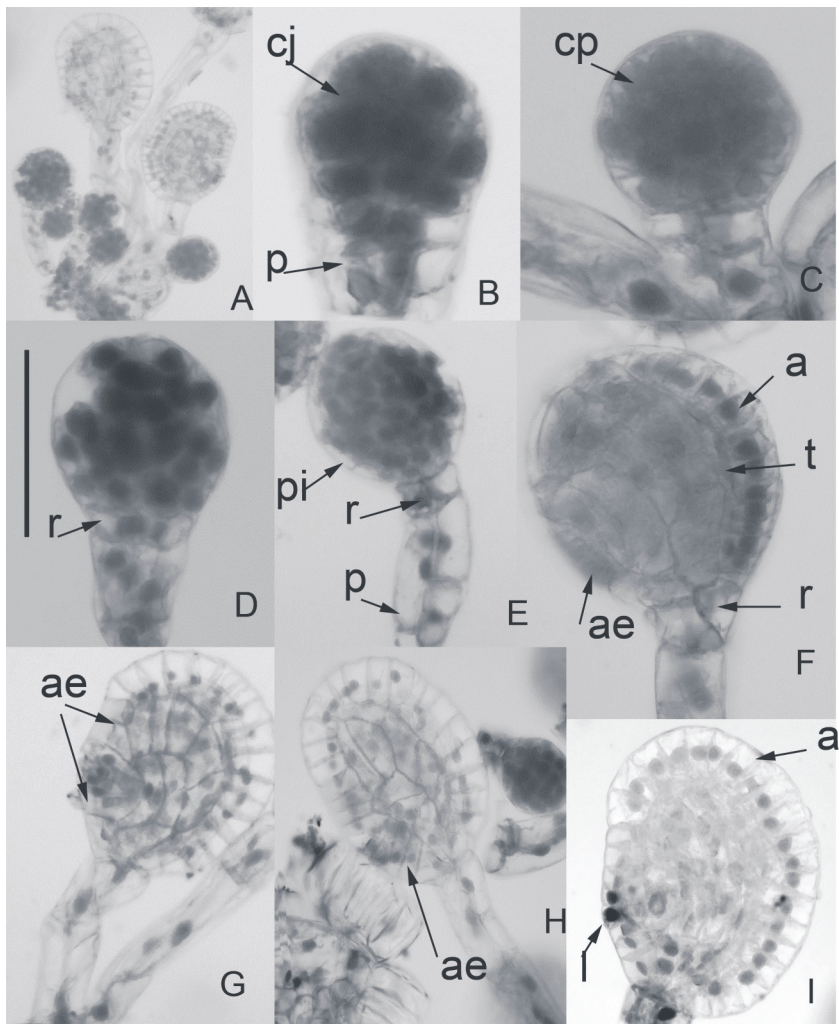


Figura 2. Desarrollo de esporangios en *B. occidentale*. **A:** desarrollo asincrónico de varios leptosporangios. **B-C:** leptosporangios juveniles, cápsulas y pedicelos pluricelulares. **D:** cápsula definida, pedicelo aún en desarrollo y roseta incipiente. **E:** cápsula pluricelular, pedicelo en proceso de alargamiento y roseta definida. **F:** Cápsula con pared, anillo definido pero sin engrosamientos, roseta, área estomial en formación. **G-H:** dos etapas subsiguientes en relación con F, cápsula con forma casi adulta, anillo en desarrollo y ocho células del área estomial todavía juveniles, con grandes núcleos. **I:** cápsula casi adulta, dos células estomiales (labios), células epistomiales e hipostomiales presentes, anillo en proceso de desarrollo, roseta. **a:** anillo; **ae:** área estomial; **cj:** cápsula juvenil; **cp:** cápsula pluricelular; **l:** labios; **p:** pedicelo joven; **pi:** iniciales de la pared; **r:** roseta; **t:** tapete. Barra: A: 140 μ m; B-C-D: 35 μ m; E: 80 μ m; F: 60 μ m; G-H: 75 μ m; I: 100 μ m.

evidentes engrosamientos en U y un estomio de 6-8 células pequeñas, dos de las cuales son células de abertura claramente labiadas y con paredes engrosadas. En este momento del desarrollo ya hay tétradas o esporas diferenciadas.

Discusión

Los conteos cromosómicos en *B. occidentale* dieron como resultado un número de bivalentes de *c.* 93 ($2n = 6x = 186$). Estos resultados, juntamente con el conocimiento de los

números básicos reportados para el género (Chambers & Farrant 1998, Tindale & Roy 2002, Rothfels *et al.* 2012), permitieron obtener evidencia directa de poliploidía y concluir que el material estudiado aquí es hexaploide. El número básico de este hexaploide de *B. occidentale* sería $x = 31$, que fue registrado también en materiales procedentes de México que presentaron $n = 62$ (Smith & Mickel 1977). Ammal & Bhavanandan (1988) también reportaron este número básico en un tetraploide de *B. occidentale* procedente del Sur de India cuyos meiocitos mostraron 40 bivalentes y 44 univalentes en metafase I, micronúcleos en telofase I y II, y alta esterilidad de las esporas. Smith & Foster (1984) registraron un triploide ($x = 31$) de *B. occidentale* procedente de Paraguay, en cuyos meiocitos detectaron apareamientos cromosómicos irregulares que demostraron la esterilidad de ese poliploide que sólo se mantiene vegetativamente mediante estolones. Los individuos analizados en el presente trabajo, que fueron recolectados en localidades cercanas entre sí del Noroeste de Argentina y geográficamente próximas al Paraguay, muestran apareamiento completo de sus cromosomas y segregación cromosómica regular sin asincronías. No se observaron univalentes fuera de placa en Metafase I, lo que demostró que todos los cromosomas se encontraban apareados, formando bivalentes abiertos o cerrados, en estados meióticos previos. Los estadios finales de la meiosis II no presentaron micronúcleos que pudieran indicar pérdida de material genético y además, las tétradas generadas mostraron forma y tamaño normales, condiciones que contribuyen a sugerir su viabilidad. Todos estos datos sugieren que el citotipo hexaploide de *B. occidentale* descrito aquí sería fértil y habría experimentado procesos de diploidización cromosómica.

En plantas, la poliploidía es reconocida como una fuerza evolutiva muy importante (Soltis & Soltis 1999) y en pteridófitos, es una condición que alcanza los niveles más altos conocidos y tendría lugar en el 99,7% de los taxones estudiados, según Wagner & Wagner (1980), Grant (1981) y Otto & Whitton

(2000). Estos últimos autores sugirieron que los taxones con un número básico mayor que $x = 14$ serían paleopoliploides. En pteridófitos homosporados, la combinación de altos números cromosómicos y expresión génica diploide ha sido explicada mediante la hipótesis de que la condición de poliploidía ha sido seguida por procesos de diploidización cromosómica, silenciamiento de genes duplicados y extinción de los progenitores diploides (Haufler 1987, 2014; Gastony 1991). Los poliploides con altos números cromosómicos existentes en la naturaleza, como el descrito en la presente contribución, serían una muestra de líneas evolutivas antiguas que superaron con éxito las diversas dificultades fisiológicas que confiere la multiplicación de genomas enteros (Grant 1981, Barker 2013, Husband *et al.* 2013).

El citotipo hexaploide de *B. occidentale* analizado aquí pudo haberse originado por autoploidía o por alopoliploidía. En pteridófitos se encontraron evidencias de que los procesos de hibridación y alopoliploidía tienen lugar de manera muy frecuente como fenómenos asociados (Barker 2013). Klekowski (1973) propuso la hipótesis de que los números cromosómico elevados de los helechos homosporados son el resultado de la alopoliploidía, lo que otorgaría a los individuos una mayor variabilidad genética en sus numerosos componentes genómicos que la que tendrían los individuos diploides. Por otra parte, la condición autoploidía, quizá menos reportada debido a las similitudes morfológicas de estos individuos con sus progenitores diploides (Husband *et al.* 2013), se encuentra frecuentemente asociada al proceso de apomixis, debido a la esterilidad producida por la herencia polisómica y los apareamientos cromosómicos irregulares (Haufler 1985, Rabe & Haufler 1992, Tindale & Roy 2002, Windham & Yatskievych 2003). Los datos meióticos obtenidos en el presente estudio sugieren que en el citotipo hexaploide de *B. occidentale* analizado aquí el proceso apomictico estaría descartado, y permiten proponer su origen alopoliploide (producto de hibridación interespecífica y duplicación cromosómica), seguido de proce-

sos de diploidización cromosómica y genética (Grant 1981, Haufler 1987, 2014; Haufler & Soltis 1986, Gastony 1991, Barker 2013). Sin embargo, esto no puede ser más que una propuesta ya que son necesarios más estudios para asegurar esta condición.

Los resultados obtenidos aquí, junto a estudios citológicos previos (Manton 1950, Walker 1966, Löve *et al.* 1977, Jara-Seguel *et al.* 2006, Dawson *et al.* 2000, González *et al.* 2010, entre otros), muestran que las especies del género *Blechnum* constituyen una serie poliploide, como las que fueran descritas para *Asplenium*, *Polystichum*, *Ophioglossum*, *Cystopteris*, o el grupo *Polypodium vulgare* L. (Manton 1950, Löve & Kapoor 1966, Perrie *et al.* 2003, Rothfels *et al.* 2014), entre otros. Por lo tanto, el presente estudio citológico es un aporte al conocimiento de la alta diversidad genética del género *Blechnum*, y en particular de sus especies sudamericanas.

El desarrollo de los leptosporangios de *B. occidentale* mostró resultados coincidentes con los descritos por González *et al.* (2010), no solamente en sus etapas sino en las medidas adultas de las partes constitutivas. Es destacable la estabilidad específica de rasgos esporangiales (número de células del anillo, estomio y pedicelo, presencia y caracteres de la roseta) así como el hecho de que no parecen modificarse sus tamaños con el aumento de la poliploidía como ocurre con los tamaños de células epidérmica y estomas en plantas de diversos grupos, con notables di-

ferencias de tamaño entre diploides y poliploides (Prada & Rolleri 2003, Harris *et al.* 1993, Ramírez-Godina *et al.* 2013, entre otros). Su utilidad en el nivel específico es destacable y su estudio no es de difícil acceso. Juntamente con otros rasgos, contribuyen de forma interesante en la determinación de las especies, especialmente si se cuenta con material herborizado incompleto o integrado sólo por frondas fértiles, algo que no es infrecuente en especies dimorfas del género *Blechnum*.

Agradecimientos

Este trabajo es parte de un proyecto acreditado del Programa de Incentivos para Docentes Investigadores de la Universidad Nacional de Las Plata (PI 11 N/698), dirigido por Cristina H. Rolleri, Investigadora I (UNLP) y codirigido por Carmen Prada, Investigadora de la Universidad Complutense de Madrid, España. Graciela E. González es Investigadora III (UNLP) e Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, Buenos Aires). Las autoras agradecen especialmente a Lidia Poggio por su gentileza en el otorgamiento de las facilidades del Laboratorio de Citogenética y Evolución de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. El trabajo ha sido financiado en parte por el Ministerio de Ciencia e Innovación del Reino de España, Proyecto CGL2009-13622.

Referencias bibliográficas

- Ammal, L. S. & Bhavanandan, K. V. 1988. Cytology of *Blechnum occidentale* Linn. from south India. *Indian Fern J.* 5: 89-91.
- Barker, M. S. 2013. Karyotype and genome evolution in pteridophytes. En: I. J. Leitch *et al.* (eds.) *Plant Genome Diversity* 2: 245-253. Springer-Verlag, Viena.
- Chambers, T. C. & Farrant, P. A. 1998. *Blechnaceae*. *Flora of Australia* 48: 359-384. ABRS/CSIRO Australia, Victoria.
- Dawson, M.; Brownsey, P. & Lovis, J. 2000. Index of chromosome numbers of indigenous New Zealand pteridophytes. *New Zeal. J. Bot.* 38: 25-46.
- De la Sota, E. R. & Cassá de Pazos, L. 1983. Contribución al conocimiento biosistemático de las especies austro-sudamericanas del género *Blechnum* L. (*Blechnaceae*-Pteridophyta). *Lilloa* 36: 77-83.
- Frenguelli, J. 1936. La serie geológica en la Argentina en su relación con la antigüedad del hombre. En: *Historia de la Nación Argentina*, 1: 3-16. Academia Nacional de la Historia, 2da. Ed. Buenos Aires.

- Frenguelli, J. 1950. Rasgos generales de la morfología y la geología de la provincia de Buenos Aires. *Laboratorio de Ensayo de Materiales e Investigaciones Tecnológicas*, Serie 2, 33: 1-72.
- Gastony, G. J. 1991. Gene silencing in a polyploidy homosporous fern: paleopolyploidy revisited. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 1602-1605.
- Ghatak, J. 1977. Biosystematic survey of pteridophytes from Shevaroy Hills, south India. *Nucleus* 20: 105-108.
- González, G. E.; Prada, C. & Rolleri, C. H. 2010. Nuevo recuento cromosómico para *Blechnum hastatum* (Blechnaceae-Pteridophyta), con un estudio de la ontogenia y tipos de leptosporangios adultos. *Gayana Bot.* 67: 52-64.
- Grant, V. 1981. *Plant speciation*. Columbia University Press, New York.
- Guerra, M. 2015. *Citotaxonomía: erros e acertos*. Actas 4ª Reunión Brasileira de Citogenética. Atibaia, São Paulo, Brasil.
- Harris, F. S.; Eloise, M.; Carter, B. & Martin, C. E. 1993. Relationship between ploidal level and CAM in five species of *Talinum* (Portulacaceae). *Am. J. Bot.* 80: 533-536.
- Haufler, C. H. 1985. Enzyme variability and modes of evolution in *Bommeria* (Pteridaceae). *Syst. Bot.* 10: 92-104.
- Haufler, C. H. 1987. Electrophoresis is modifying our concepts of evolution in homosporous pteridophytes. *Am. J. Bot.* 74: 953-966.
- Haufler, C. H. 2014. Ever since Klekowski: testing a set of radical hypothesis revives the genetics of ferns and lycophytes. *Am. J. Bot.* 10: 2036-2042.
- Haufler, C. H. & Soltis, D. E. 1986. Genetic evidence indicates that homosporous ferns with high chromosome numbers may be diploid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 4389-4393.
- Husband, B. C.; Baldwin S. J. & Suda, J. 2013. The incidence of polyploidy in natural plant populations: majors patterns and evolutionary processes. En: I. J. Leitch et al. (eds.) *Plant Genome Diversity*, 2: 255-276. Springer-Verlag, Viena.
- Jara-Seguel, P.; Romero-Mieres, M. & Palma-Rojas, C. 2006. Chromosome numbers of Chilean pteridophytes: first contribution. *Gayana Bot.* 63: 115-118.
- Kasmirczak, C. 1999. *A familia Blechnaceae (C. Presl) Copel. (Pteridophyta) no Rio Grande do Sul*. Tesis (Grau do Mestre). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Klekowsky, E. J. 1973. Sexual and subsexual systems in the homosporous ferns: a new hypothesis. *Am. J. Bot.* 60: 535-544.
- Kurita, S. 1986. Chromosome studies on South American pteridophytes (1). En: Anónimo (ed.), *Contributions to the botany of the Andes*, 2: 47-67.
- Lellinger, D. B. 2002. A modern multilingual glossary for taxonomic pteridology. *Pteridologia* 3. American fern Society Inc.
- Löve, A.; Löve, D. & Pichi-Sermolli, R. 1977. *Cytotaxonomical atlas of the Pteridophyta*. J. Cramer, Vaduz.
- Löve, A. & Kapoor, B. M. 1966. An allopolyploid *Ophioglossum*. *Nucleus* 9: 132: 138.
- Manton, I. 1950. *Problems of cytology and evolution in the Pteridophyta*. Cambridge University Press. London.
- Marcon, A. B.; Barros, I. C. L. & Guerra, M. 2003. Cariologia de algumas espécies de pteridófitas ocorrentes no nordeste do Brasil. *Acta Bot. Bras.* 17: 19-26.
- Mickel, J. T. & Beitel, J. M. 1988. Pteridophyte flora of Oaxaca, México. *Mem. N. Y. Bot. Gard.* 46: 79-89.
- Moran, R. C. 1995. *Blechnaceae*: 325-333. En: R. C. Moran & R. Riba (eds.) *Flora Mesoamericana, Psilotaceae a Salviniaceae* 1. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Motooka, P.; Castro, L.; Nelson, D.; Nagai, G., & Ching, L. 2003. *Weeds of Hawaii's pastures and natural areas: an identification and management guide*. College of Tropical Agriculture and Human Resources (University of Hawaii, Manoa), Honolulu.
- Nakazato, Y.; Jung, M.; Housworth, E. A.; Rieseberg, L. H. & Gastony, G. J. 2006. Genetic map-based analysis of genome structure in the homosporous fern *Ceratopteris richardii*. *Genetics* 173: 1585-97.
- Otto, S. P. & Whitton, J. 2000. Polyploid incidence and evolution. *Annu. Rev. Genet.* 34: 401-437.
- Perrie, L.; Brownsey, P.; Lockhart, P. & Largie, M. 2003. Evidence for an allopolyploid complex in New Zealand *Polystichum*. *New Zeal. J. Bot.* 41: 189-215.
- Ponce, M. 1996. *Pteridophyta. Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina*, I. En: Zuloaga F. O. & Morrone O. (eds.) *Monogr. Syst. Bot., Missouri Bot. Gard* 60: 1-79.

- Prada, C. & Rolleri, C. H. 2003. Caracteres epidérmicos en especies ibéricas del género *Isoetes* L. (*Isoetaceae*-Pteridophyta). *Anales Jard. Bot. Madrid* 60: 371-386.
- Quinn, C. J. 1961. Chromosome complements of Tasmanian representatives of the genus *Blechnum*. *Pap. Proc. R. Soc. Tasmania* 95: 1-5.
- Rabe, E. W. & Haufler C. H. 1992. Incipient polyploid speciation in the maidenhair fern (*Adiantum pedatum*, *Adiantaceae*)? *Am. J. Bot.* 79: 701-707.
- Ramírez-Godina, F.; Robledo-Torres, B.; Foroughbakhch-Pournavab, R.; Benavides-Mendoza, A. & Alvarado-Vázquez, M. A. 2013. Viabilidad de polen, densidad y tamaño de estomas en autotetraploides y diploides de *Physalis ixocarpa*. *Bot. Sci.* 91: 11-18.
- Rolleri, C. H. & Prada, C. 2006. Catálogo comentado de las especies de *Blechnum* (*Blechnaceae*-Pteridophyta) de Mesoamérica y Sudamérica. *Anales Jard. Bot. Madrid* 63: 67-106.
- Rolleri, C. H.; Prada, C.; Passarelli, L.; Gabriel y Galán, J. M. & Ciciarelli, M. C. 2012. Revisión de especies monomorfas y subdimorfas del género *Blechnum* (*Blechnaceae*-Pteridophyta). *Bot. Complut.* 36: 51-77.
- Rothfels, C. J.; Johnson, A. K.; Windham, M. D. & Pryer K. M. 2014. Low-copy nuclear data confirm rampant allopolyploidy in the *Cystopteridaceae* (Polypodiales). *Taxon* 63: 1026-1036.
- Rothfels, C. J.; Sundue, M. A.; Kuo, L.; Larsson, A.; Kato, M.; Schuettpelz, E. & Pryer, K. M. 2012. A revised family-level classification for eupolypod II ferns (Polypodiidae: Polypodiales). *Taxon* 61: 515-533.
- Smith, A. R. & Foster, M. S. 1984. Chromosome numbers and ecological observations of ferns from El Tirol, Paraguay. *British Fern Gaz.* 12: 321-329.
- Smith, A. & Mickel, J. 1977. Chromosome counts for Mexican ferns. *Brittonia* 29: 391-398.
- Soltis, D. E. & Soltis, P. S. 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Tree* 14: 48-352.
- Tindale, M. & Roy, S. 2002. A cytotaxonomic survey of the Pteridophyta of Australia. *Aust. Syst. Bot.* 15: 839-937.
- Wagner, W. H. & Wagner, F. S. 1980. Polyploidy, biological relevance. En: W. H. Lewis (ed.) *Proceedings of the International Conference on Polyploidy, Biological Relevance*: 199-214. Plenum Press, New York.
- Walker, T. G. 1966. A cytotaxonomic survey of the pteridophytes of Jamaica. *Trans. R. Soc. Edinburgh* 66: 169-237.
- Walker, T. G. 1973. Additional cytogenetic notes on the pteridophytes of Jamaica. *Trans. R. Soc. Edinburgh* 69: 109-135.
- Walker, T. G. 1985. Cytotaxonomic studies of the ferns of Trinidad. The cytologic and taxonomic implications. *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Bot.* 13: 149-249.
- Windham, M. & Yatskievych, G. 2003. Chromosome studies of cheilanthoid ferns (*Pteridaceae*, *Cheilanthoideae*) from the western United States and Mexico. *Am. J. Bot.* 90: 1788-1800.

