

DICIEMBRE 2018

VOLUMEN 53 (4)

Boletín de la
Sociedad Argentina de
BOTÁNICA



S Δ B

SOCIEDAD ARGENTINA DE BOTÁNICA

ISSN 0373-580X Córdoba, Argentina



Es el órgano de difusión de la Sociedad Argentina de Botánica encargado de editar trabajos científicos originales, revisiones y recensiones en todas las ramas de la biología vegetal y de los hongos. Se edita un volumen anual con dos entregas semestrales. Los trabajos son sometidos a un sistema de arbitraje antes de ser aceptados. Las instrucciones a los autores pueden consultarse en las siguientes páginas en Internet. Authors instructions can be consulted on the following web pages:

<http://www.botanicaargentina.com.ar/> <http://revistas.unc.edu.ar/index.php/BSAB>

El Boletín está incorporado al Nucleo Básico de revistas científicas argentinas y Scielo (Scientific Electronic Library On Line) y es citado en Science Citation Index Expanded, Current Contents (Agriculture, Biology & Environmental Sciences), Scopus, AGRICOLA, Index to American Botanical literature, Periódica, Latindex, Excerpta Botanica, The Kew Record of Taxonomic Literature, CAB (Center for Agriculture and Bioscience International), Biosis Previews, Biological Abstracts.

Directores

GABRIEL BERNARDELLO (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba), boletinsab@gmail.com
ANA MARÍA GONZALEZ (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)

Editores Asociados

LUZ ALLENDE (Universidad Nacional de Gral. Sarmiento, Los Polvorines) **Ficología**
ANA CALVIÑO (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba) **Biología Reproductiva**
CAROLINA I. CALVIÑO (Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Río Negro) **Plantas Vasculares**
FRANCO E. CHIARINI (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba) **Plantas Vasculares**
MASSIMILIANO DEMATTEIS (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes) **Plantas Vasculares**
GEORGINA M. DEL FUEYO (Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, CABA) **Paleobotánica**
GUILLERMO FUNES (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba) **Ecología**
ANA MARÍA GONZALEZ (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes) **Morfología, Anatomía**
DIEGO GUTIÉRREZ (Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, CABA) **Plantas Vasculares**
NORMA I. HILGERT (Instituto de Biología Subtropical, Puerto Iguazú) **Etnobotánica**
LEOPOLDO IANONNE (Universidad de Buenos Aires) **Micología**
GONZALO J. MARQUEZ (Universidad Nacional de La Plata) **Palinología**
OLGA G. MARTINEZ (Universidad Nacional de Salta) **Plantas Vasculares**
FEDERICO MOLLARD (Universidad de Buenos Aires) **Fisiología**
EUGENIA A. SAR (Universidad Nacional de La Plata) **Ficología**
VIVIANA SOLIS NEFFA (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes) **Genética, Evolución**
GUILLERMO SUAREZ (Instituto Miguel Lillo, Tucumán) **Briología**
OMAR VARELA (Universidad Nacional de Chilecito, La Rioja) **Ecología**
M. VICTORIA VIGNALE (Universidad de Buenos Aires) **Micología**
PAULA ZUNINO (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba) **Fitoquímica**

Asesores Editoriales

MARCELO AIZEN - **Biología Reproductiva** (Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Río Negro)
PASTOR ARENAS - **Etnobotánica** (Cefybo, Universidad de Buenos Aires)
MARCELO CABIDO - **Ecología** (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)
LEZILDA CARVALHO TORGAN - **Ficología** (Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil)
CECILIA EZCURRA - **Plantas Vasculares** (Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Río Negro)
PABLO GOLOBOFF - **Sistemática Filogenética** (Fundación Miguel Lillo, Tucumán)
NANUZA LUIZA DE MENEZES - **Anatomía** (Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil)
MARTA MORBELLI - **Paleobotánica, Palinología** (Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires)
DENISE PINHEIRO DA COSTA - **Briología** (Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil)
LIDIA POGGIO - **Genética, Evolución** (Universidad de Buenos Aires)
JEFFERSON PRADO - **Plantas Vasculares** (Instituto de Botánica, San Pablo, Brasil)
MARIO RAJCHENBERG - **Micología** (Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico, Esquel, Chubut)
FERNANDO ZULOAGA - **Plantas Vasculares** (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro, Buenos Aires)

El Boletín es propiedad de la Sociedad Argentina de Botánica. Domicilio legal: Av. Angel Gallardo 470 CABA

© Sociedad Argentina de Botánica. Córdoba, 2018.

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Avda. Vélez Sarsfield 299, 5000 Córdoba, Argentina. Tel.: 0351 – 433 2104

Queda hecho el depósito que establece la ley 11.723

Inscripto en el Registro de la Propiedad Intelectual N° 44913267

Fecha de Distribución: 28 de diciembre de 2018.

ÍNDICE

FICOLOGÍA - PHYCOLOGY

- CLAUDIA T. SEELIGMANN, NORA I. MAIDANA y EDUARDO A. MORALES - Fragilariaceae (Bacillariophyta) en humedales de altura de Catamarca (Argentina). 507-519
Fragilariaceae (Bacillariophyta) in high altitude wetlands of Catamarca (Argentina).
- SILVIA N. MARTÍNEZ DE MARCO, BEATRIZ C. TRACANNA, SARA C. ISASMENDI, MARIELA DEL C. ALDERETE, MARÍA DE LOS Á. TABOADA y VIRGINIA MIRANDE - Evaluación del fitoplancton en el embalse Escaba (Tucumán – Argentina) para caracterizar la calidad de sus aguas. 521-542
Assessment of phytoplankton in the Escaba reservoir, Tucumán, Argentina, in order to characterize the water quality.
- ANDREA VIDAURRE, FLORENCIA S. ALVAREZ DALINGER, LILIANA B. MORAÑA y MARÍA M. SALUSSO - Cianobacterias en un embalse subtropical de la provincia de Salta (Argentina). 543-549
Cyanobacteria in a subtropical reservoir of the province of Salta (Argentina).
- ELENA FABRO, BERND KROCK y GASTÓN O. ALMANDOZ - Dinoflagelados productores de yessotoxinas en el Mar Argentino. 551-566
Dinoflagellates producers of yessotoxins in the Argentine Sea.

ANATOMÍA Y MORFOLOGÍA - ANATOMY AND MORPHOLOGY

- MARÍA A. TROD, PABLO A. TOMAS, GERARDO D. L. CERVIGNI, JUAN M. ZABALA, LORENA D. R. MARINONI y JULIO A. GIAVEDONI - Análisis de la distribución y densidad estomática en *Trichloris* (Chloridoideae, Poaceae), bajo diferentes regímenes hídricos. 567-578
Analysis of distribution and stomatal density in *Trichloris* (Chloridoideae, Poaceae), under different water regimes.
- ANA M. ARAMBARRI - La “técnica de clarificación 5-5-5”, un método natural para el tratamiento de material vegetal. 579-586
The “clearing technique 5-5-5”, a natural method for treatment of plant materials.
- PAULA ZANATTA, TALITA BALDIN, DEBORA DUARTE RIBES, PATRÍCIA SOARES BILHALVA DOS SANTOS e DARCI ALBERTO GATTO - Macroscopia da madeira de *Eucalyptus* como ferramenta para identificação a campo. 587-595
Macroscopy of *Eucalyptus* wood as a field identification tool.

FISIOLOGÍA - PHYSIOLOGY

- JUAN A. GONZÁLEZ, SEBASTIÁN E. BUEDO, FERNANDO E. PRADO y SABRINA ÁLVAREZ - Efecto de la vinaza sobre el crecimiento y productividad de la soja (*Glycine max*) en condiciones semicontroladas. 597-608
Effects of vinasse on the growth and productivity of soybean (*Glycine max*) under semicontrolled conditions.

- ORLANDO A. RODRIGUEZ MATA, ANA I. HONFI y JULIO R. DAVIÑA - Regeneración de bulbos de *Hippeastrum striatum* y *Habranthus brachyandrus* (Amaryllidaceae) sometidos a corte longitudinal. 609-618
Regeneration of bulbs of *Hippeastrum striatum* and *Habranthus brachyandrus* (Amaryllidaceae) subjected to longitudinal cutting.

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA - REPRODUCTIVE BIOLOGY

- MARÍA A. ZAPATER, MARÍA M. ALEMÁN, EVANGELINA C. LOZANO, VICTOR H. AQUINO, CAROLINA B. FLORES, MIRIAM N. GIL, JOHANA VILLADA y GUSTAVO ARAYA - Aspectos reproductivos de *Schinus areira* (Anacardiaceae). . 619-631
Reproductive aspects of *Schinus areira* (Anacardiaceae).

ECOLOGÍA Y FITO GEOGRAFÍA - ECOLOGY AND PHYTOGEOGRAPHY

- ANA LAURA NAVAS ROMERO, MARIO ANDRÉS HERRERA MORATTA y MELINA ELIZABETH ZULIANI - Efecto de los nidos de *Acromyrmex lobicornis* (Formicidae: Myrmicinae) sobre la descomposición de hojarasca, en el desierto del Monte. 633-640
Effect of the nests of *Acromyrmex lobicornis* (Formicidae: Myrmicinae) on the decomposition of litter, in the "Monte" desert.

SISTEMÁTICA DE PLANTAS VASCULARES - SYSTEMATICS OF VASCULAR PLANTS

- ANDRÉS J. ROSSADO, SABINA DONADÍO, PABLO BERAZATEGUI y JOSÉ M. BONIFACINO - Novedades del género *Tillandsia* (Bromeliaceae, Tillandsioideae) para Uruguay. 641-651
Novelties in the genus *Tillandsia* (Bromeliaceae, Tillandsioideae) for Uruguay.

- JORGELINA ASMUS, DÉBORA CHAMORRO, VIRGINIA Y. MOGNI, LUIS J. OAKLEY y DARIÉN E. PRADO - Identidad taxonómica de los 'talas': Análisis morfológico de *Celtis tala* y *Celtis pallida* (Celtidaceae). 653-664
Taxonomic identity of the 'talas': Morphological analysis of *Celtis tala* and *Celtis pallida* (Celtidaceae).

MARIA A. ZAPATER, VÍCTOR H. AQUINO, CAROLINA B. FLORES y
EVANGELINA C. LOZANO - Clarificaciones nomenclaturales y circunscripción
taxonómica de *Schinus areira* (Anacardiaceae) en Argentina. 665-671
Nomenclatural clarifications and taxonomic circumscription of *Schinus areira*
(Anacardiaceae) in Argentina.

OBITUARIO - OBITUARY 673-674

FE DE ERRATAS - ERRATA 675-676

REVISORES - REVIEWERS 677-680

FRAGILARIACEAE (BACILLARIOPHYTA) EN HUMEDALES DE ALTURA DE CATAMARCA (ARGENTINA)

CLAUDIA T. SEELIGMANN^{1*}, NORA I. MAIDANA²⁻³ y EDUARDO A. MORALES⁴

Summary: Fragilariaceae (Bacillariophyta) in high altitude wetlands of Catamarca (Argentina). Three high mountain wetlands were studied in the Catamarca Province, Argentina, as part of a larger study focusing on high mountain waterbodies in the Argentinian Andes. In this contribution we present species in the group of small Fragilariaceae found so far in: Laguna Diamante (hiperhaline), Laguna Salitre (fresh) and Laguna Negra (mesohaline). The species belong to the genera *Staurosira*, *Staurosirella* and *Pseudostaurosira*. Three species, *Staurosirella galanensis*, *S. salitrensis* and *Pseudostaurosira ferrarioae* are new to science, which are herein described, illustrated and compared to morphologically similar taxa. *S. galanensis* is smaller and more rhomboidal than the other cruciform species of the genus, while *S. salitrensis* is smaller and less silicified than closely related species. *Pseudostaurosira ferrarioae* is distinguished from similar taxa especially by its well developed apical pore fields. The other representatives of the family found in these sites were *Staurosira binodis*, which is a new record for the Catamarca Province, *Pseudostaurosira altiplanensis*, cited here for the first time for Argentina and *P. aff. polonica*.

Key words: Andes, fragilarioids, Bacillariophyta, diatoms, high mountain ecosystems.

Resumen: Se estudiaron tres humedales de alta montaña en la provincia de Catamarca, Argentina, como parte de un estudio más amplio que se enfoca en cuerpos de agua en los Andes argentinos. En esta contribución damos a conocer dentro del grupo de Fragilariaceae de pequeño tamaño, especies de los géneros *Staurosira*, *Staurosirella* y *Pseudostaurosira* halladas en las lagunas Diamante (hiperhalina) y Salitre (dulce) y en la vega de la laguna Negra (mesohalina). De las especies encontradas, *Staurosirella galanensis*, *S. salitrensis* y *Pseudostaurosira ferrarioae* son nuevas para la ciencia y fueron descritas, ilustradas y comparadas con taxones similares. *S. galanensis* es más pequeña y romboidal que otras especies cruciformes del género, mientras que *S. salitrensis* es de menor tamaño y menos silicificada que otras especies estrechamente relacionadas. *Pseudostaurosira ferrarioae* se distingue de especies afines especialmente por tener campos de poros apicales bien desarrollados. Los otros representantes de esta familia encontrados en el área de estudio fueron *Staurosira binodis*, especie que se menciona por primera vez para Catamarca, *Pseudostaurosira altiplanensis*, citada por primera vez para Argentina y *P. aff. polonica*.

Palabras clave: Andes, fragilarioides, Bacillariophyta, diatomeas, ecosistemas de alta montaña.

INTRODUCCIÓN

En Argentina, los numerosos y variados cuerpos de agua en alta montaña (ubicados a más de 2000 m snm), se encuentran, según el esquema de Morrone (2002), dentro de las provincias Puna y

Prepuna. Estas provincias, biogeográficamente muy relacionadas, pertenecen a la Subregión Páramo-Puneña. En el área de estudio existen numerosos humedales entre los que se encuentran lagos y salares de diversos tamaños, integrados en sistemas de cuencas endorreicas, que constituyen parches

¹ Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Ciencias Naturales e IML, Argentina.

² Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Laboratorio de Diatomeas Continentales, Buenos Aires, Argentina.

³ CONICET- Universidad de Buenos Aires, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada - (IBBEA), Laboratorio de Diatomeas Continentales, Buenos Aires, Argentina.

⁴ Universidade de Évora, Laboratório da Água e Instituto Ciências da Terra, Évora, Portugal.

*claudiaseeligmann@gmail.com

de hábitats acuáticos en una matriz desértica. Estos ecosistemas albergan una biodiversidad peculiar con especies endémicas, de las cuales las aves son especialmente variadas. Los lagos son poco profundos y no presentan una verdadera comunidad de plancton; hay una proliferación frecuente de formas adaptadas a baja humedad. Las diatomeas han sido reconocidas como el grupo de algas más importante, tanto en abundancia como en riqueza de especies, seguido de cianobacterias y clorofitas (Maidana & Seeligmann, 2014). Los humedales son muy variables espacial y temporalmente y tienen una alta fragilidad debido, en parte, a las prolongadas sequías, alta irradiación, fuertes vientos y amplitudes térmicas elevadas (Caziani & Derlindati, 2000).

Una gran parte de la diatomoflora andina es aún poco conocida y el número de endemismos y de nuevas especies podría ser mucho mayor que lo reportado hasta ahora en la literatura. A pesar de ello, se han descrito numerosos taxones, y se ha registrado un alto número de especies en algunos sitios de los Andes (Maidana & Seeligmann, 2006, 2015; Maidana *et al.*, 2011; Morales *et al.*, 2009, 2014a; Rumrich *et al.*, 2000; Seeligmann & Maidana, 2003; Seeligmann *et al.*, 2008, entre otros).

Durante las últimas tres décadas, los taxónomos prestaron especial interés a las especies de fragilarioides de pequeño tamaño. Estudios de la ultraestructura de sus valvas dieron como resultado, por ejemplo, la reasignación de varias especies tradicionalmente incluidas en *Fragilaria* Lyngbye en algunos géneros nuevos y otros reestablecidos a tal fin (Williams & Round, 1987; Morales, 2001, 2002, entre otros). Entre los caracteres ultraestructurales más destacados actualmente utilizados para circunscribir los géneros se encuentran: la estructura de las aréolas, de las espinas y de los campos porosos apicales (CPAs).

Los géneros más ampliamente distribuidos de las pequeñas fragilarioides son *Staurosira* Eherenberg, *Staurosirella* Williams & Round y *Pseudostaurosira* Williams & Round. Las especies de *Staurosira* se caracterizan por ser cruciformes, con estrías compuestas por aréolas alargadas en sentido apical, espinas huecas, CPA poco desarrollados y bandas cingulares abiertas. Forman siempre colonias, son epifitas y accidentalmente pueden ser planctónicas. *Staurosirella* tiene valvas lineales, cruciformes o elípticas; puede haber una depresión en uno de los ápices, el borde abvalvar es paralelo a la unión valva/manto y las aréolas son como hendidas. Los CPAs

están bien desarrollados, las espinas son huecas o sólidas, las bandas cingulares pueden ser abiertas o cerradas y las fimbrias están bien desarrolladas. En *Pseudostaurosira* las valvas son lineales, elípticas o cruciformes. Este género está caracterizado por presentar estrías cortas, formadas por areolas grandes, tener *volae* bifurcadas y robustas, CPAs reducidos, espinas sólidas y con lígulas, areolas con alerones y el manto con placas. Habitualmente, se encuentran formando colonias adheridas al substrato y accidentalmente pueden ser planctónicas.

La clasificación de las pequeñas fragilarioides de agua dulce es una de las más complejas dentro de las diatomeas (Morales, 2002) por su pequeño tamaño y características valvares que se hallan bajo el límite de resolución del microscopio óptico sumado al reducido número de caracteres y la relativa falta de estudios monográficos que ilustren la variabilidad intra y extrapoblacional, aun de los taxa más comunes. Esta escasez de información se hace extensiva a Sudamérica donde la carencia es más notoria, especialmente para ambientes de alta montaña. A esto se superpone la deriva taxonómica, que ha llevado a la existencia de más de un concepto para un solo taxón (Morales *et al.*, 2014a). Es por ello que, a pesar de la frecuente ocurrencia de este grupo, falta un análisis detallado que incorpore información tanto de microscopía óptica (MO) como de microscopía electrónica de barrido (MEB) (Morales, 2005) y permita resolver la taxonomía de muchas especies.

Durante el análisis de muestras colectadas dentro de los proyectos realizados (Ecología de humedales de Alta Montaña) en la provincia de Catamarca, se observaron varios taxa de fragilarioides (Seeligmann & Maidana, 2003; Maidana & Seeligmann, 2006). En este trabajo presentamos un estudio detallado sobre tres especies que tienen un conjunto de características que las distinguen de otros taxones del grupo descritos anteriormente. Además, ilustramos otras tres especies que si bien ya han sido descritas no fueron citadas para Argentina o no habían sido mencionadas anteriormente para Catamarca o en ambientes tan extremos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el marco del Censo Internacional de Aves Altoandinas del GCFA, realizado en enero de 2005, se obtuvieron muestras de agua con red de plancton

de 20 μm de apertura de malla en la zona litoral de tres humedales de la Provincia de Catamarca situados entre los $26^{\circ}02'08''$ y los $27^{\circ}39'23''$ S, a más de 3600 m snm (Fig. 1). El material recolectado fue incorporado al Herbario (index herbariorum LIL) Colección Ficológica de la Fundación Miguel Lillo bajo los rótulos: laguna Diamante: ARGENTINA. *Prov. de Catamarca: Dpto. Antofagasta de la Sierra*, 20-01-2005, Seeligmann 26103 (LIL), hiperhalina; laguna Salitre: ARGENTINA. *Prov. de Catamarca: Dpto. Antofagasta de la Sierra*, 20-01-2005, Seeligmann 26105 (LIL), dulce y en la vega de la laguna Negra: ARGENTINA. *Prov. de Catamarca: Dpto. Tinogasta*, 22-01-2005, Seeligmann 26108 (LIL), mesohalina. La salinidad, la conductividad eléctrica, el oxígeno disuelto y la profundidad se midieron en el campo. Las variables físico-químicas para cada

ecosistema se pueden encontrar en Maidana & Seeligmann (2015, Tabla 1).

El tratamiento de las muestras fue realizado siguiendo la metodología estándar descrita en Battarbee (1986). Se usó Naphrax® como medio de montaje en preparados permanentes.

Las observaciones se realizaron usando un microscopio óptico binocular Reichert-Jung Polyvar equipado con objetivos PlanApo 100X, NA 1.32 y una cámara digital Canon EOS 600D.

Para la observación con MEB se utilizó un microscopio Carl Zeiss SUPRA 40 (15kV) del Centro de Microscopías Avanzadas (CMA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN), Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Los especímenes fotografiados tanto con MO como con MEB fueron medidos usando el programa Zeiss Axiovision 4.8.2.

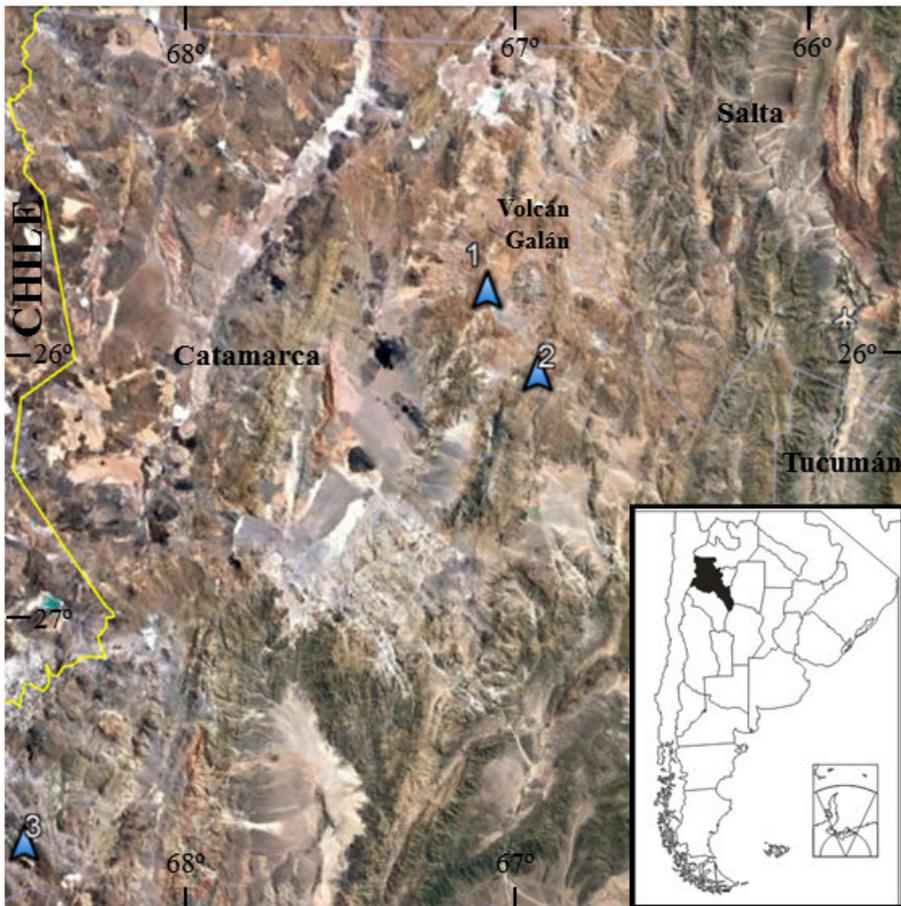


Fig. 1. Mapa del área de estudio: 1: Laguna Diamante, 2: Laguna Salitre, 3: Vega de Laguna Negra.

Para la descripción de las nuevas especies se siguió la terminología sugerida por Ross *et al.* (1979) para la de estrías, areolas y espinas; la de Barber & Haworth (1981) para la forma de la valva y patrón de estrías y la de Williams & Round (1987) y Round *et al.* (1990) para la subestructura areolar, poros apicales y características de las bandas cingulares.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los humedales ya estudiados para la provincia de Catamarca, hemos encontrado una notable riqueza de especies y una gran variabilidad morfológica de taxones pertenecientes a la familia Fragilariaceae (Maidana & Seeligmann, 2015). Las lagunas con mayor número de fragilarioides fueron Salitre (10), Vega de la Laguna Negra (5) y la laguna Diamante (4).

En general, se considera que las pequeñas fragilarioides son formas habituales en ambientes con conductividades elevadas (Seddon *et al.*, 2014) y Morales (2002) sostiene que son componentes importantes de la flora de aguas duras. Algunas especies de *Pseudostaurosira* fueron reportadas para ambientes con conductividad baja a media (Cejudo-Figueiras *et al.*, 2011). Las Fragilariaceae en la Puna y Prepuna fueron halladas en un variado espectro de salinidad: en agua dulce (laguna Salitre), mesohalina (vega de la laguna Negra) e hiperhalina (laguna Diamante).

El análisis morfológico y morfométrico de las pequeñas Fragilariaceae halladas en las lagunas Diamante y Salitre y en la vega adyacente a la laguna Negra reveló la presencia de una sola especie del género *Staurosira*, *S. binodis* (Ehrenberg) Lange-Bertalot, que se menciona por primera vez para Catamarca, dos especies nuevas de *Staurosirella*: *S. galanensis* sp. nov. y *S. salitrensis* sp. nov. Asimismo, identificamos tres especies de *Pseudostaurosira*, de las cuales una representa una nueva especie para la que proponemos el nombre de *P. ferrarioae* sp. nov. Además, encontramos a *P. altiplanensis* Lange-Bertalot & U. Rumrich, que se cita por primera vez para Argentina y a *P. aff. polonica* (M. Witak & Lange-Bertalot) E. A. Morales & M. B. Edlund.

Staurosira binodis (Ehrenberg) Lange-Bertalot (Fig. 2A-B)

Valvas lanceoladas en especímenes pequeños, algo constrictas en el centro en los más grandes,

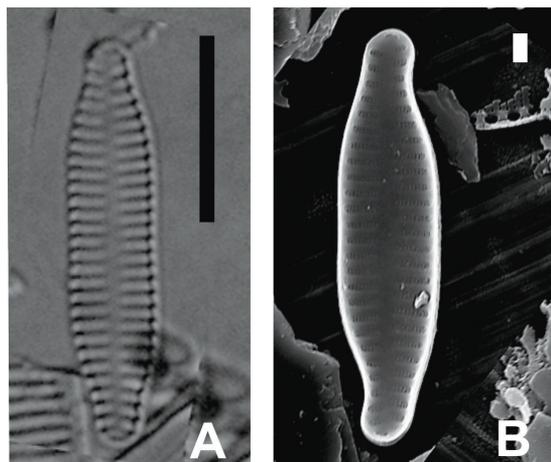


Fig. 2. *Staurosira binodis*. A: (MO). B: (MEB) vista interna. Escalas= A: 10 μ m; B: 2 μ m.

con extremos subcapitados y ápices redondeados.

Dimensiones: eje apical 19,3-21,6 μ m, eje transapical 3,9-4,6 μ m. Estrías 13-14 en 10 μ m

Material estudiado: laguna Diamante.

Staurosira binodis fue mencionada anteriormente para Argentina en Laguna de Los Pozuelos (Jujuy) como *Staurosira construens* var. *binodis* (Ehrenberg) Hamilton (González Achem *et al.*, 2014).

Staurosirella galanensis Seeligmann, C. T., N. I. Maidana & E. A. Morales sp. nov. (Fig. 3A-N)

Frústulos rectangulares en vista conectival. Valvas cruciformes, isopolares a levemente heteropolares. Extremos rostrados con ápices redondeados de longitud variable. Área axial angosta, lanceolada, delimitada por estrías levemente radiales. Las estrías son uniseriadas y están formadas por areolas alargadas en sentido apical, ininterrumpidas desde la superficie valvar hasta el manto (Fig. 3H-J). Las aréolas decrecen en tamaño desde el margen de la superficie valvar hacia el manto y hacia el área central. Espinas sólidas, marginales, ubicadas entre las estrías y en los polos (Fig. 3H, M), con ápices abruptamente espatulados (Fig. 3J, M). En las aréolas, las *volae* no fueron observadas y, debido a la pequeña apertura areolar, es muy probable que estén muy reducidas (Fig. 3M, N). CPAs en ambos ápices, desigualmente desarrollados y pequeños,

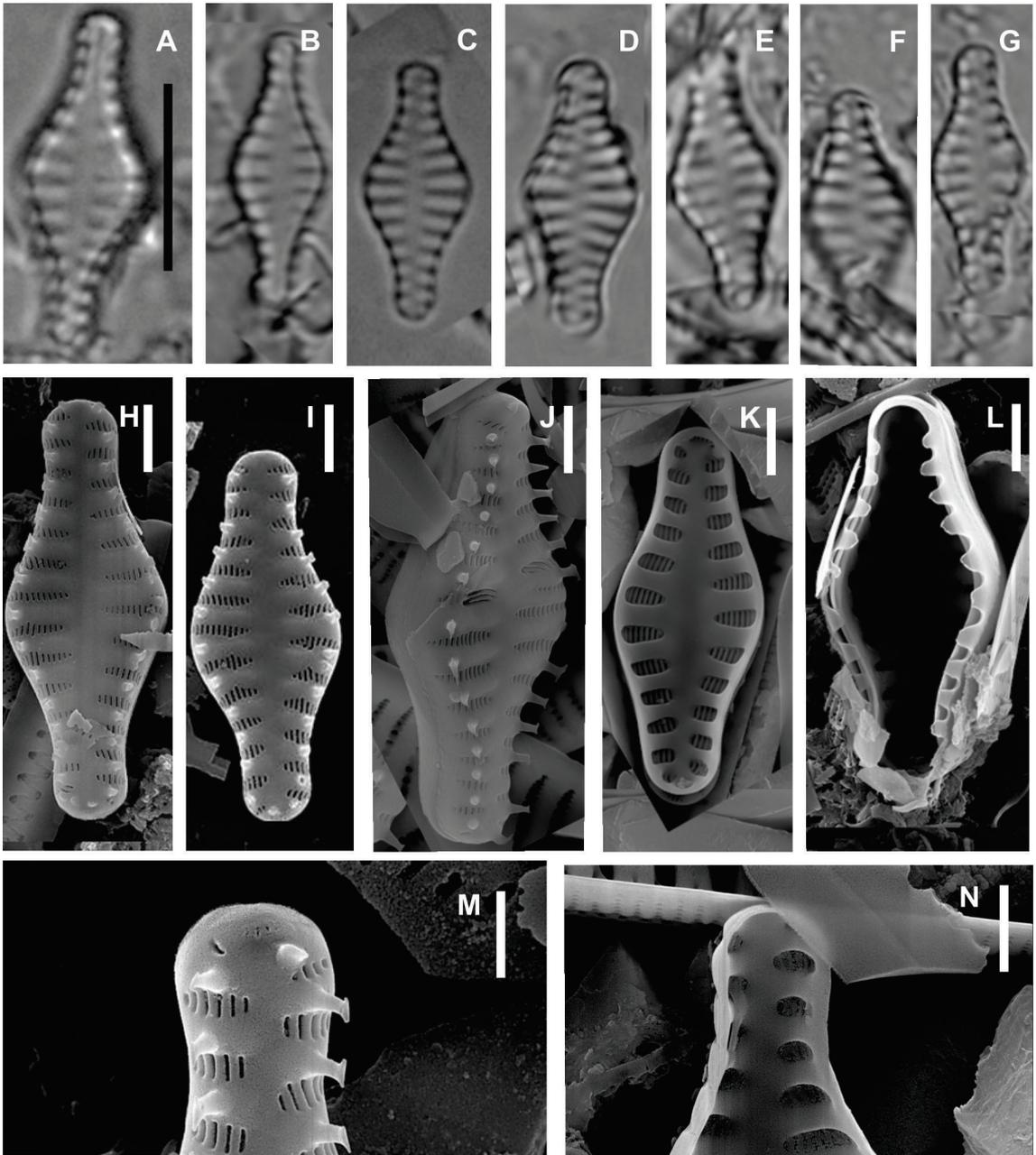


Fig. 3. *Staurosirella galanensis*. **A-G:** (MO). **H-N:** (MEB). **H-J:** vistas externas. **J:** par de estrías centrales con una posición anómala de las aréolas. **K-L, N:** vistas internas. **L:** valvocúpula ancha y fimbrias bien desarrolladas. **M:** detalle de uno de los ápices mostrando un CPA formado por pequeños poroides y las espinas sólidas con extremos espatulados. Escalas = A-G: 10 μ m; H-L: 2 μ m; M-N: 1 μ m.

formados hasta por ocho poroides redondeados (Fig. 3K, M). Valvocúpula ancha, con fimbrias desarrolladas en la parte interior (Fig. 3L).

Description: Frustules in girdle view rectangular. Valves cruciform, isopolar to slightly heteropolar, rostrate with rounded apices of variable length.

Axial area narrow, lanceolate, delimited by slightly radial striae. Striae uniseriated, formed by apically elongated areolae, appearing sunken into the valve and uninterrupted from valve face to mantle. Striae decrease in width toward valve margin and toward valve center. Spines solid, marginal, located between striae, also present at the poles, with abruptly spatulate apices. Volae were not observed and are probably reduced due to small areolar aperture. APF present at both apices, unequally developed, formed by up to 8 poroids. Valvocopula wide with well-developed fimbriae in the pars interior.

Dimensiones: eje apical 11,6-15,3 μm (N=41); eje transapical 4-5,5 μm (N=41); relación largo/ancho: 2,4-3,3. Largo del ápice: 2,5-3,5 μm (N=20). Estrías 9-12 en 10 μm (N= 41).

Holotipo: ARGENTINA. Prov. Catamarca: Dpto. Antofagasta, 20-01-2005, Seeligmann 26105-1 (LIL). Parcialmente ilustrado en Fig. 3A-G.

Localidad tipo: Laguna Salitre 26°14'51''S 66°54'04''W, 4248 m snm (Dpto. Antofagasta, Catamarca, Argentina).

Etimología: el epíteto de la especie se refiere a que fue encontrada en las inmediaciones del volcán Galán.

Observaciones: Las características ultraestructurales (tipo de estrías, fimbrias bien desarrolladas y valvocópula ancha) muestran claramente que esta especie pertenece a *Staurosirella*, aunque es la única que tiene CPAs pequeños. Las valvas más pequeñas de *S. rhomboides* Morales & Manoylov (Morales & Manoylov, 2006a) se parecen a *S. galanensis* sp. nov., sin embargo, la forma de la valva es romboide en *S. rhomboides* y sus dimensiones son mayores, alcanzando longitudes de hasta 55 μm , un ancho valvar entre 5,5-9 μm y una densidad de estrías menor (6,5-9 μm en 10 μm), medidas que no se superponen con los de la nueva especie. Los CPAs son también mucho menos desarrollados en *S. galanensis*, en la que no se observa la marcada heteropolaridad de *S. rhomboides* (Morales & Manoylov, 2006a, fig. 96).

Staurosirella galanensis sp. nov. es también diferente a la otra especie cruciforme del género, *S. leptostauron* (Ehrenberg) Williams & Round. Si bien las formas más pequeñas pueden superponerse en su longitud (12-33 μm) a las de *S. galanensis* sp. nov., las valvas de *S. leptostauron* tienen una construcción

mucho más robusta y el ensanchamiento de las valvas en el área central es mucho más pronunciado, llegando a tener incluso formas cuneadas a ambos lados de la valva. Asimismo, en *S. leptostauron* las estrías son mucho más anchas y marcadas y las valvas son también más anchas (7-19 μm) (Morales & Manoylov, 2006a, figs. 1-12). *S. acidophila* Almeida, Wetzel, Morales, Ector & Bicudo también tiene valvas romboidales, sin embargo la forma es lanceolada, con ápices relativamente más estrechos (Almeida *et al.*, 2015, figs. 2-31). Además, las valvas llegan a ser más largas (hasta 19,5 μm), más anchas (hasta 6,8 μm) y la densidad de estrías es mucho menor (8-9 en 10 μm), los CPAs son mucho más desarrollados (Almeida *et al.*, 2015, figs. 33, 34, 37) y las espinas son mucho más desarrolladas, pudiendo encontrarse una o dos filas de tres espinas sobre una misma interestría (Almeida *et al.*, 2015, figs. 33, 34, 37, 38).

Staurosirella salitrensis Seeligmann, C. T., N. I. Maidana & E. A. Morales **sp. nov.** (Fig. 4A-O)

Valvas marcadamente heteropolares. El extremo apical desde rostrado hasta no diferenciado del cuerpo principal, con el ápice redondeado, de ancho variable, generalmente tiene un escalón más o menos evidente (Fig. 4H-I), con o sin estrías y con un CPA reducido, con escasos poroides, difíciles de observar ya que se ubican en el manto valvar (Fig. 4M). El extremo basal es más angosto, redondeado y, en algunos ejemplares, rostrado (Fig. 4A-G); con un CPA bien desarrollado, ubicado algo más arriba de la unión manto-superficie valvar y que se extiende hasta el extremo abvalvar del manto (Fig. 4I, K, N). Área axial angosta, lineal a lanceolada. Estrías anchas, dispuestas en forma alterna respecto del eje apical, no visibles en el extremo basal. La superficie valvar es ondulada, con costillas marcadas separando las estrías, que se ubican en depresiones (Fig. 4L, O). Las estrías están formadas por aréolas alargadas en sentido apical. En cada estría las aréolas de los extremos son mucho más cortas que las centrales (Fig. 4H). Las estrías son normalmente uniseriadas aunque, a veces, las areolas aparecen divididas en dos o en tres aréolas más pequeñas (Fig. 4I, L, O), a través de conexiones silíceas (*cross-bars*). Estas divisiones, pueden verse en un mismo individuo en algunas, todas o ninguna de las estrías (Fig. 4L, O). Las espinas, cuando presentes, son muy pequeñas, sólidas y cónicas,

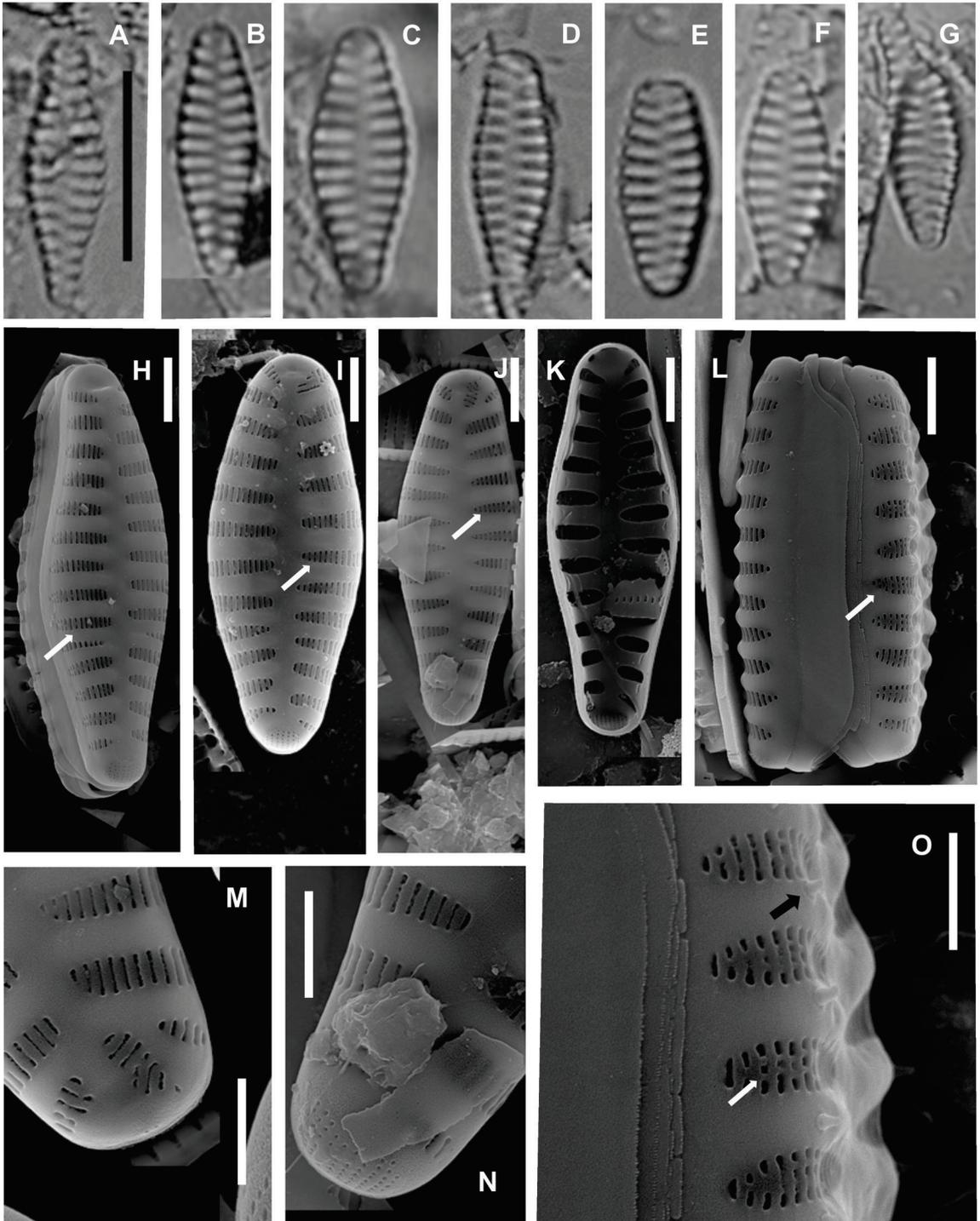


Fig. 4. *Staurosirella salitrensis*. **A-G:** (MO). **H-O:** (MEB). **H-J:** vistas externas con (H-I) y sin (J) escalones en el extremo apical y CPA en el extremo basal de la valva. **K:** vista interna. **L, O:** vista cingular donde se observa la superficie valvar ondulada, las estrías están localizadas en una sinuosidad y cada espina cónica está ubicada en una depresión circular (flecha negra). **M:** detalle de uno de los ápices con escalón. **N:** CPA bien desarrollado. Las flechas blancas señalan la formación de estrías seriadas. Escalas = A-G: 10 µm; H-L: 2 µm; M-O: 1 µm.

ubicadas en depresiones circulares, sobre las costillas (Fig. 4O). Cíngulo compuesto por varias bandas no perforadas, siendo la valvocópula la más ancha. No se pudo determinar el carácter abierto o cerrado de los elementos del cíngulo. (Fig. 4L).

*Description: Valves clearly heteropolar. Apical end varying from rostrate to non-differentiated from the rest of the valve, generally with a depression (step), with or without striae and with a reduced apical pore field composed of small poroids, difficult to observe since they are situated on the valve mantle. Basal apex is narrower than apical one, rounded to rostrate always with a well-developed apical pore field, located at the transition between valve face and mantle and extending to the abvalvar side of the latter. Axial area narrow, linear to lanceolate. Striae wide, alternate, not visible toward basal end. Valve surface undulate with marked costae, separating striae located on depressions. The striae formed by apically elongated areolae. In each stria, areolae at ends are shorter than middle ones. Striae are usually uniseriate although, sometimes, the areolae are subdivided into 2 or 3 shorter ones through siliceous connections (cross-bars). Within the same population, some individuals lack such subdivisions while others have partial or totally subdivided striae, thus resembling members of *Punctastriata*. Spines, when present, small, solid, conical and located on circular depressions on the costae. Cingulum composed of several non-perforated bands, the valvocopula being the widest.*

Dimensiones: eje apical 9,8-13,5 μm (N=30); eje transapical 3,2-4,4 μm (N=30). Estrías 10-14 en 10 μm (N=30); aréolas 58-66 en 10 μm .

Holotipo: ARGENTINA. Prov. Catamarca: Dpto. Antofagasta, 20-01-2005, Seeligmann 26105-1 (LIL). Parcialmente ilustrado en Fig. 4A-G.

Localidad tipo: Laguna Salitre 26°14'51''S 66°54'04''W, 4248 m snm (Dpto. Antofagasta, Catamarca, Argentina).

Etimología: el epíteto de la especie se refiere a que fue encontrada en la laguna Salitre.

Observaciones: Si bien al MEB las valvas del material estudiado guardan cierta semejanza con *S. martyi* (Héribaud) Morales & Manoylov (ver Morales & Manoylov, 2006a, Figs. 105, 106); al MO lucen mucho menos silicificadas, menos ovaladas y tienen mayor densidad de estrías (comparar sus Figs. 34-43 con nuestras Fig. 4A-G).

S. martyi nunca tiene espinas y solo tienen CPAs en el polo basal (Morales & Manoylov, 2006a, figs. 102-104) mientras que en *S. salitrensis* sp. nov. están en ambos polos, aunque el del polo apical es mucho más reducido que el del basal. Asimismo, hay una diferencia en las bandas cingulares, las de *S. martyi* son notablemente convexas en su margen abvalvar (Morales & Manoylov, 2006a, fig. 107) mientras que en *S. salitrensis* sp. nov. este margen es paralelo al borde abvalvar del manto. *S. incognita* Morales & Manoylov también es heteropolar aunque con el polo basal mucho más delgado y cuneado; con el escalón siempre presente en el polo apical (Morales & Manoylov, 2006b, figs. 7-26). Las valvas de *S. incognita* llegan a ser más largas (hasta 21 μm), son más anchas (4-6 μm), las estrías son mucho menos densas (7-9 in 10 μm) y los CPAs son mucho más desarrollados (Morales & Manoylov, 2006b, figs. 24, 25). Si bien las dimensiones de *S. salitrensis* se superponen con las de *S. pinnata* sensu Morales (Morales, 2010), la heteropolaridad en esta última no es tan notoria y las valvas tienden a ser más elípticas y no ovaladas como en *S. salitrensis*. Además, las espinas están bien desarrolladas en *S. pinnata*.

La presencia de un escalón en el polo apical también fue observada para otras especies del género, como *S. martyi*, *S. confusa* (Morales, 2005) y *S. incognita* (Morales & Manoylov, 2006b).

La presencia de divisiones en las aréolas en el género *Staurosirella* ya ha sido mostrada para varias especies (Morales, 2005; Morales *et al.*, 2014b).

Pseudostaurosira altiplanensis Lange-Bertalot & U. Rumrich in Rumrich *et al.* 2000 (Fig 5A-B)

Valvas estrictamente elípticas, con extremos truncos redondeados, nunca rostrados.

Dimensiones: eje apical 6,8 μm , eje transapical 2,5-3 μm . Estrías 12-15 en 10 μm .

Material estudiado: laguna Salitre.

Pseudostaurosira altiplanensis es citada por primera vez para Argentina. Fue encontrada por Rumrich *et al.* (2000) en el Parque Nacional Lauca (4.300 m snm, Chile).

Pseudostaurosira ferrarioae Seeligmann, C. T., N. I. Maidana & E. A. Morales **sp. nov.** (Fig. 6A-M)

Valvas rómbico-lanceoladas, con ápices alargados, subrostrados, raramente subcapitados, redondeados. Área axial ancha, lanceolada. Estrías

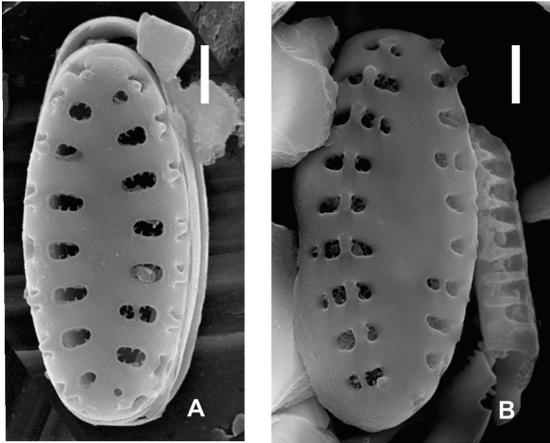


Fig. 5. *Pseudostaurosira altiplanensis*. **A-B:** (MEB) vistas externas. Escalas= A-B: 1 µm.

cortas, radiales, formadas por dos, raramente tres, aréolas grandes, alargadas en sentido transapical (Fig. 6I). Una o dos aréolas en la superficie valvar y una en el manto, ocluidas por *volae* dicotómicamente ramificadas (Fig. 6M).

CPAs desarrollados (Fig. 6I-L), formados por 6-8 filas de pequeños poroides redondeados. Espinas, cuando presentes, muy cortas y cónicas, interrumpiendo las estrías (Fig. 6I-J).

Description: Valves rhomboid with elongated, subrostrate, rarely subcapitate apices. Striae formed by two, rarely three large, elongated areolae. One or two areolae on valve face and one on valve mantle; occluded by dichotomously branched *volae*. Apical pore fields (APF) developed, formed by 6-8 rows of small, rounded

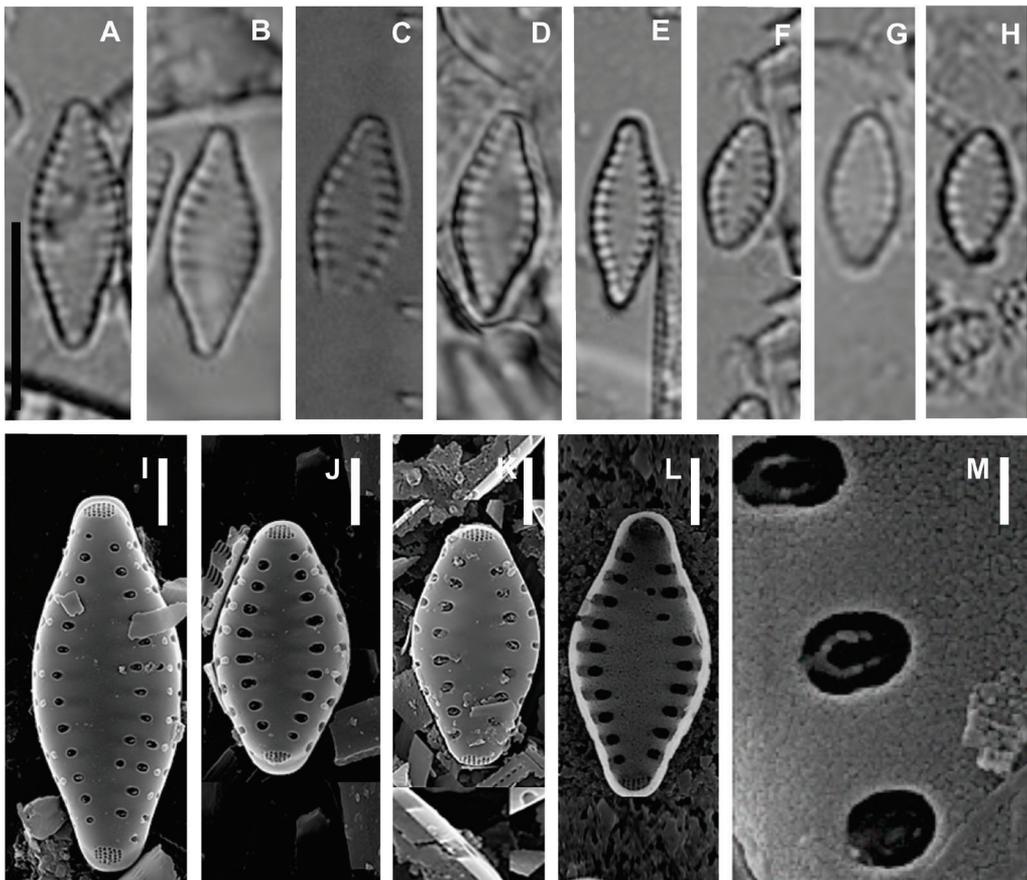


Fig. 6. *Pseudostaurosira ferrarioae*. **A-H:** (MO). **I-M:** (MEB). **I-K:** vistas externas de las valvas mostrando estrías formadas por 1-2 aréolas, espinas cortas y CPAs formados por pequeños poroides. **L:** vista interna. **M:** detalle de la vista externa mostrando aréolas ocluidas por *volae* dicotómicamente ramificadas. Escalas = A-H: 10 µm; I-L: 2 µm; M: 200 nm.

poroids. Spines, when present, short and conical, interrupting the striae.

Dimensiones: eje apical 8,5-10 μm (N=37), eje transapical 3,8-4,4 μm (N=37). Estrías, 13-15 en 10 μm (N=37).

Holotipo: ARGENTINA. Prov. Catamarca: Dpto. Antofagasta, 20-01-2005, Seeligmann 26105-2 (LIL). Parcialmente ilustrado en Fig. 6A-H.

Localidad tipo: Laguna Salitre 26°14'51''S 66°54'04''W, 4248 m snm (Dpto. Antofagasta, Catamarca, Argentina).

Etimología: dedicamos esta nueva especie a la Dra. Martha Ferrario, maestra de diatómólogos.

Observaciones: Si bien la mayoría de las especies de *Pseudostaurosira* tiene CPAs reducidos (Cejudo-Figueiras *et al.*, 2011), hay taxones, como *P. parasitica* (W. Smith) Morales y la nueva especie aquí propuesta, que los tienen bien desarrollados (ver Morales *et al.*, 2015, figs. 95-96). Sin embargo, en *P. parasitica* el CPA está hundido en el ápice valvar, lo cual se observa también en vista interna, como un adelgazamiento de toda la placa del CPA (Morales, 2003, figs. 54-58, 64, Morales *et al.*, 2015, figs. 95-98).

Al MO, la nueva especie es muy parecida a *P. brevistriata* (Grunow) Williams & Round y a *P. microstriata* (Marciniak) Flower. Si bien *P. brevistriata* y *P. ferrarioae* sp. nov. poseen aproximadamente el mismo ancho valvar y la misma densidad de estrías, las valvas de *P. ferrarioae* sp. nov. son más cortas (8,5-10 μm contra 11-19 μm en *P. brevistriata*). En *P. brevistriata* las valvas son mucho más lanceoladas y las espinas son robustas (Morales *et al.*, 2015, figs. 107-143). Los CPAs de *P. brevistriata* también están hundidos (Morales *et al.*, 2015, figs. 140-142) pero están muy reducidos (4 poroides) mientras que en *P. ferrarioae* sp. nov. están bien desarrollados, con numerosos poroides dispuestos regularmente en hileras (Fig. 6 I-J). *P. microstriata* tiene valvas mucho más pequeñas (5,5-7,5 de largo y 2,1-3,3 de ancho) y la densidad de estrías es también mucho mayor en esta especie (18-22 en 10 μm). El contorno de *P. microstriata* es menos romboidal y más lanceolado, los extremos incluso llegan a ser subrostrados y los ápices son más redondeados que los de *P. ferrarioae* sp. nov. (Marciniak, 1982). Adicionalmente, los CPAs de *P. microstriata* son muy reducidos y se circunscriben a no más de cuatro poros. *Pseudostaurosira microstriata* var. *spinosa* Flower difiere de la variedad nominal por la menor densidad de estrías (17 en 10 μm), la presencia de espinas bien

desarrolladas, ubicadas sobre las estrías y CPAs reducidos (Flower, 2005), contrariamente a lo que sucede en *P. ferrarioae* sp. nov.

Pseudostaurosira ferrarioae sp. nov. también se asemeja a *P. elliptica* pero esta última es más angosta (3-3,5 μm), posee espinas bien desarrolladas interrumpiendo sus estrías, CPAs con espinulas y hundidos interna y externamente (Edlund *et al.*, 2006, figs. 17-24).

Los CPAs de *P. ferrarioae* sp. nov. se asemejan a los de *P. moralesi* Graeff, Kocielek & S.R. Rushforth en su grado de desarrollo pero nuestro material carece de las estrías fantasma que caracterizan a *P. moralesi*. También, la forma valvar es elíptica con ápices cuneados en *P. moralesi* y los CPAs están hundidos hacia el interior (Graef *et al.*, 2013 figs. 56-63).

Pseudostaurosira ferrarioae también difiere de *P. decipiens* en que esta última posee valvas lanceoladas, más anchas (4-6 μm) y los CPAs se hallan hundidos en ambos ápices valvares tanto externa como internamente (Morales *et al.*, 2012, figs. 39, 42, 44). Además, *P. decipiens* también posee las alas o discos flotantes en la parte interna y externa de las aperturas areolares (Morales *et al.*, 2012, figs. 39, 40, 44), los cuales no se han observado en *P. ferrarioae*.

La nueva especie también se diferencia de *P. laucensis* por la forma de la valva, que en el caso de esta última es lanceolada con ápices muy delgados en relación al resto de la valva; las valvas pueden ser más largas (hasta 20 μm) y más anchas (hasta 5,5 μm). Las estrías de *P. laucensis* están más desarrolladas, delimitando un área axial menos ancha que la de *P. ferrarioae* (Rumrich, *et al.*, 2000, figs. 10-20, 22, 23). Estas últimas figuras muestran también las estrías fantasma de *P. laucensis* que están ausentes en *P. ferrarioae*. Adicionalmente, las espinas de *P. laucensis* están reducidas a grupos de prominencias que se hallan interrumpiendo las estrías y que, en algunos casos, parecen formar un ribete continuo a lo largo del borde de la cara valvar, próximo a su unión con el manto (Rumrich *et al.*, 2000, lám. 3, fig. 22). Si bien los CPAs están desarrollados en *P. laucensis* (Rumrich *et al.*, 2000, lám. 3, figs 22, 23), estos se hallan hundidos en el ápice valvar en vista externa. No existen imágenes de MEB de la vista interna de este taxon.

Algunos ejemplares de *P. tenuis* Morales & Edlund tienen cierta similitud con *P. ferrarioae* (Morales & Edlund, 2003, Fig. 22) pero ambas especies se diferencian por el ancho valvar (2 μm) y el número de estrías (23 en 10 μm).

Pseudostaurosira aff. *polonica* (M. Witak & Lange-Bertalot) E. A. Morales & M. B. Edlund (Fig. 7A-G)

Valvas anchamente elípticas, con extremos no rostrados y ápices ligeramente aguzados en especímenes pequeños y redondeados en los más grandes.

Dimensiones: eje apical 7,8-20,3 μm , eje transapical 2,5-3 μm . Estrías 13-15 en 10 μm .

Material estudiado: vega de la laguna Negra.

Observaciones: Nuestros ejemplares se asemejan a *Pseudostaurosira polonica* por la forma, tamaño, tipo de espinas y aréolas con volae desarrolladas y se diferencian porque los CPAs están muy poco desarrollados o están formados por un poroide. *P. polonica* fue reportada para estuarios en Polonia (Witkowski *et al.*, 1995) y para agua dulce en Mongolia (Morales & Edlund, 2003). Esta discontinuidad geográfica y las preferencias ecológicas aparentemente diferentes sugieren que “*P. polonica*” podría tratarse de un complejo de especies en el cual nuestro material podría estar incluido.

CONCLUSIONES

Aunque existen numerosos estudios realizados dentro de este grupo de diatomeas, la falta de

coherencia en la taxonomía y en la información brindada por la literatura (Morales *et al.*, 2010) no permite aún establecer las preferencias ecológicas de la mayoría de los taxones hasta ahora descritos. Para algunos autores las Fragilariaceae son frecuentes en alta montaña, donde estos organismos deben adaptarse a bajas temperaturas, con prolongados períodos con hielo, cambios bruscos de las condiciones físico-químicas, bajas concentraciones de nutrientes y alta UV (Schmidt *et al.*, 2004a). Contribuciones realizadas para ambientes de alta montaña por otros autores (Álvarez-Blanco *et al.*, 2011; Morales & Edlund, 2003; Morales *et al.*, 2010, 2012; Rumrich *et al.*, 2000; Schmidt *et al.*, 2004a; 2004b, entre otros) indican que *Staurosira* es el género encontrado con mayor frecuencia en estos ambientes, seguido de *Pseudostaurosira*, siendo *Staurosirella* el menos frecuente. Sin embargo, debe considerarse que los autores mencionados tienen conceptos taxonómicos diferentes para la circunscripción de estos géneros.

El hallazgo de tres especies nuevas en muestras provenientes de sólo tres humedales sugiere que son necesarios nuevos estudios para conocer la real diversidad de las diatomeas fragilarioides en alta montaña y clarificar sus preferencias ecológicas.

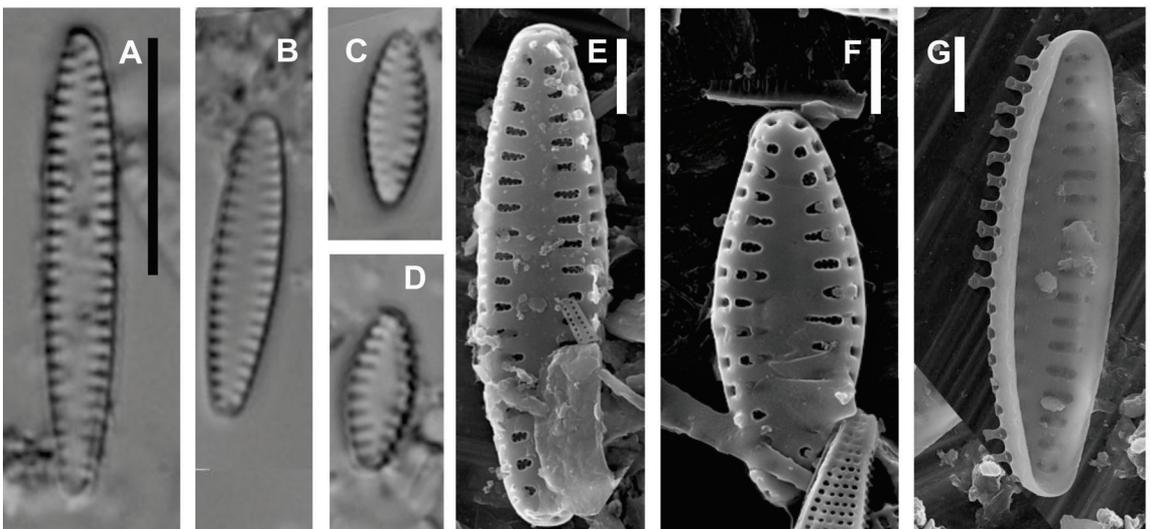


Fig. 7. *Pseudostaurosira* aff. *polonica*. **A-D:** (MO). **E-G:** (MEB). **E-F:** vistas externas. **E:** espinas espatuladas interrumpiendo las estrías. **G:** vista interna. Escalas = A-D: 10 μm ; E-G: 2 μm .

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Fundación Miguel Lillo por el lugar de trabajo proporcionado. Este trabajo fue cofinanciado por la Unión Europea a través del Fondo de Desarrollo Regional Europeo en el marco de COMPETE 2020 (Operational Programme Competitiveness and Internationalization) y a través del Proyecto ICT (UID/GEO/04683/2013) con referencia POCI-01-0145-FEDER-007690.

BIBLIOGRAFÍA

- ALMEIDA, P. D., C. E. WETZEL, E. A. MORALES, L. ECTOR & D. C. BICUDO. 2015. *Staurosirella acidophila* sp. nov., a new araphid diatom (Bacillariophyta) from southeastern Brazil: ultrastructure, distribution and autecology. *Cryptogamie Algol.* 36: 255-270.
- ÁLVAREZ-BLANCO, I., C. CEJUDO-FIGUEIRAS, I. de GODOS, R. MUÑOZ & S. BLANCO. 2011. Las diatomeas de los salares del Altiplano boliviano: singularidades florísticas. *Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. Secc. Biol.* 105: 67-82.
- BARBER, H. G. & E. Y. HAWORTH. 1981. A guide to the morphology of the diatom frustule with a key to the British freshwater genera. *Freshwater Biol. Assoc. Scient. Publ.* 44: 1-112.
- BATTARBEE, E. W. 1986. Diatom Analysis. In: BERGLUND, B. E. (ed.), *Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology*, pp. 527-570. J. Wiley & Sons, New York.
- CAZIANI, S. & E. DERLINDATI. 2000. Abundance and habitat of Andes flamingos in northwestern Argentina. *Waterbirds* 23 (Special publication 1): 121-133.
- CEJUDO-FIGUEIRAS, C., E. A. MORALES, C. E. WETZEL, S. L. BLANCO, L. HOFFMANN & L. ECTOR. 2011. Analysis of the type of *Fragilaria construens* var. *subsalina* (Bacillariophyceae) and description of two morphologically related taxa from Europe and the United States. *Phycologia* 50: 67-77.
- EDLUND, M. B., E. A. MORALES & S. A. SPAULDING. 2006. The type and taxonomy of *Fragilaria elliptica* Schumann, a widely misconstrued taxon. In: WIRTOWSKI, A. (ed.), *Eighteenth International Diatom Symposium 2004*, pp. 53-59. Biopress Limited, Bristol.
- FLOWER, R. J. 2005. A taxonomic and ecological study of diatoms from freshwater habitats in the Falkland Islands, South Atlantic. *Diatom Res.* 20: 23-96.
- GONZÁLEZ ACHEM, A. L., C. T. SEELIGMANN & M. ALDERETE. 2014. Variaciones espacio-temporales de la flora diatomológica en Laguna de Los Pozuelos (Jujuy, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 49: 177-193.
- GRAEFF, C. L., J. P. KOCIOLEK & S. R. RUSHFORTH. 2013. New and interesting diatoms (Bacillariophyta) from Blue Lake warm springs, Tooele County, Utah. *Phytotaxa* 153: 1-38.
- MAIDANA, N. I. & C. T. SEELIGMANN. 2006. Diatomeas (Bacillariophyceae) de ambientes acuáticos de altura de la Provincia de Catamarca, Argentina II. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 41: 1-13.
- MAIDANA, N. I. & C. T. SEELIGMANN. 2014. Phytoplankton in high mountain wetlands of Argentina. In: TELL, G. I. IZAGUIRRE & I. O'FARRELL, (eds.), *Freshwater Phytoplankton of Argentina*. Advance in Limnology 65, pp. 23-35. Schweizerbart Science Publishers. Stuttgart.
- MAIDANA, N. I. & C. T. SEELIGMANN. 2015. Diatomeas (Bacillariophyceae) en humedales de altura de la provincia de Catamarca (Argentina). III. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 50: 447-466.
- MAIDANA, N. I., C. T. SEELIGMANN & M. MORALES. 2011. El género *Navicula sensu stricto* (Bacillariophyceae) en humedales de altura de Jujuy, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46: 13-29.
- MARCINIÁK, B. 1982. Late glacial and Holocene new diatoms from glacial Lake Przedni Staw in the Przedni Stawów Polskich Valley, Poliss Tatra Mts. *Acta Geol. Acad. Sci. Hung.* 25: 161-71.
- MORALES, E. A. 2001. Morphological studies in selected fragilarioid diatoms (Bacillariophyceae) from Connecticut waters (USA). *Proc. Acad. Nat. Sci. Phila.* 151: 105-120.
- MORALES, E. A. 2002. Studies in selected fragilarioid diatoms of potential indicator value from Florida (USA) with notes on the genus *Opephora* Petit (Bacillariophyceae). *Limnologica* 32: 102-113.
- MORALES, E. A. 2003. On the taxonomic status of the genera *Belonastrum* and *Synedrella* proposed by Round and Maidana (2001). *Cryptogamie Algol.* 24: 277-288.
- MORALES, E. A. 2005. Observations of the morphology of some known and new fragilarioid diatoms (Bacillariophyceae) from rivers in the USA. *Phycol. Res.* 53: 113-133.
- MORALES, E. A. 2010. Citing online sources: *Staurosirella pinnata*. In Diatoms of North America. [online]. Disponible en: https://diatoms.org/species/staurosirella_pinnata.htm [Acceso: 03 July 2018].
- MORALES, E. A. & M. B. EDLUND. 2003. Studies in selected fragilarioid diatoms (Bacillariophyceae) from Lake Hovsgol, Mongolia. *Phycol. Res.* 51: 225-239.
- MORALES, E. A. & K. M. MANOYLOV. 2006a. Morphological studies on selected taxa in the genus *Staurosirella* Williams et Round (Bacillariophyceae) from rivers in North America. *Diatom Res.* 21: 343-364.

- MORALES, E. A. & K. M. MANOYLOV. 2006b. *Staurosirella incognita* Morales et Manoylov sp. nov., a non-spiny species from North America, with an emended description of *Staurosirella* Williams et Round (Bacillariophyceae). In: WITKOWSKI, A. (ed.), *Proceedings of the Eighteenth International Diatom Symposium*, pp. 325-336. Biopress Limited, Bristol.
- MORALES, E. A., E. FERNÁNDEZ & P. J. KOCIOLEK. 2009. Epilithic diatoms (Bacillariophyta) from cloud forest and alpine streams in Bolivia, South America 3: diatoms from Sehuenas, Carrasco National Park, Department of Cochabamba. *Acta Bot. Croat.* 68: 263-283.
- MORALES, E. A., M. B. EDLUND & S. ASPAULDING. 2010. Description and ultrastructure of araphid diatom species (Bacillariophyceae) morphologically similar to *Pseudostaurosira elliptica* (Schumann) Edlund *et al.* *Phycol. Res.* 58: 97-107.
- MORALES, E. A., M. H. NOVAIS, G. CHÁVEZ, L. HOFFMANN & L. ECTOR. 2012. Diatoms (Bacillariophyceae) from the Bolivian Altiplano: three new araphid species from the Desagüadero River draining Lake Titicaca. *Fottea* 12: 41-58.
- MORALES, E. A., C. E. WETZEL, S. F. RIVERA, B. VAN DE VIJVER & L. ECTOR. 2014a. Current taxonomic studies on the diatom flora (Bacillariophyceae) of the Bolivian Altiplano, South America, with possible consequences for palaeoecological assessments. *J. Micropalaeontol.* 33: 121-129.
- MORALES, E. A., K. BUCZKÓ, C. E. WETZEL, M. H. NOVAIS, N. OGNJANOVA-RUMENOVA, L. HOFFMANN & L. ECTOR. 2014b. Transfer of *Staurosira grunowii* to *Staurosirella*. *Diatom Res.* 29: 105-110.
- MORALES, E. A., C. E. WETZEL, B. VAN DE VIJVER & L. ECTOR. 2015. Morphological studies on type material of widely cited araphid diatoms (Bacillariophyta). *Phycologia* 54: 455-470.
- MORRONE, J. J. 2002. Presentación sintética de un nuevo esquema biogeográfico de América Latina y el Caribe. In: COSTA, C., A. VANIN, J. M. LOBO & A. MELIC (eds.), *Red Latinoamericana de Biogeografía y Entomología sistemática*. Monografías Tercer Milenio 2, pp. 267-275. SEA, Zaragoza.
- ROSS, R., E. J. COX, N. I. KARAYEVA, D. G. MANN, T. B. B. PADDOCK, R. SIMONSEN & P. A. SIMS. 1979. An amended terminology for the siliceous components of the diatom cell. *Nova Hedwigia, Beih.* 64: 513-533.
- ROUND, F. E., R. M. CRAWFORD, & D. G. MANN. 1990. *The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press, Cambridge.
- RUMRICH, U., H. LANGE-BERTALOT & M. RUMRICH. 2000. Diatoms of the Andes: from Venezuela to Patagonia/Tierra del Fuego. *Iconogr. Diatomol.* 9: 1-649.
- SCHMIDT, R., C. KAMENIK, H. LANGE-BERTALOT & R. KLEE. 2004a. *Fragilaria* and *Staurosira* (Bacillariophyceae) from sediment surfaces of 40 lakes in the Austrian Alps in relation to environmental variables, and their potential for palaeoclimatology. *J. Limnol.* 63: 171-189.
- SCHMIDT, R., H. LANGE-BERTALOT, & R. KLEE. 2004b. *Staurosira parasitoides* sp. nova and *Staurosira microstriata* (Marciniak) Lange-Bertalot from surface sediment samples of Austrian alpine lakes. *Algol. Stud.* 114: 1-9.
- SEDDON, A. W. R., A. WITKOWSKI, C. A. FROYD, J. K. KURZYDŁOWSKI, J. GRZONKA & K. J. WILLIS. 2014. Diatoms from isolated islands II: *Pseudostaurosira diablarum*, a new species from a mangrove ecosystem in the Galápagos Islands. *Diatom Res.* 29: 201-211.
- SEELIGMANN, C. T. & N. I. MAIDANA. 2003. Diatomeas (Bacillariophyceae) en ambientes de altura de la Provincia de Catamarca (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 38: 39-50.
- SEELIGMANN, C. T., N. I. MAIDANA & M. MORALES. 2008. Diatomeas (Bacillariophyceae) de humedales de altura de la Provincia de Jujuy - Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 43: 1-17.
- WILLIAMS, D. M. & F. ROUND. 1987. Revision of the genus *Fragilaria* Lyngbye. *Diatom Res.* 2: 267-288.
- WITKOWSKI, A., H. LANGE-BERTALOT & M. WITAK. 1995. Diatom taxa of unusual frustule structure belonging to the genus *Fragilaria*. *Frag. Florist. Geobot.* 40: 729-741.

Recibido el 11 de abril de 2018, aceptado el 7 de septiembre de 2018. Editora: Eugenia Alicia Sar.

EVALUACIÓN DEL FITOPLANCTON EN EL EMBALSE ESCABA (TUCUMÁN — ARGENTINA) PARA CARACTERIZAR LA CALIDAD DE SUS AGUAS

SILVIA N. MARTÍNEZ DE MARCO^{1,2*}, BEATRIZ C. TRACANNA^{2,3}, SARA C. ISASMENDI², MARIELA DEL C. ALDERETE⁴, MARÍA DE LOS Á. TABOADA¹⁻³ y VIRGINIA MIRANDE^{1,2}

Summary: Assessment of phytoplankton in the Escaba reservoir, Tucumán, Argentina, in order to characterize the water quality. The aim of this study was to analyze space-time variations of phytoplankton in the limnetic zone of the Escaba reservoir and the mouth of its tributary rivers, Chavarría, Las Moras, El Chorro and Singuil, and compare these with physicochemical variables in order to characterize the water quality between 2010 and 2012. One hundred and thirty-five taxa were determined: 77 Bacillariophyceae, 40 Chlorophyta, 12 Cyanophyta, 5 Euglenophyta and 1 Dinophyta. Algal density varied between 84 and 6,924 individuals/ml with *Ceratium hirundinella* as the dominant species, except for spring 2011. Chlorophyll-*a* varied seasonally and in space with values between 6 and 2,511 µg/l, with higher numbers for the affluents. Elevated biomass values and the polysaprobic character of the waters defined a deficient or bad ecological status. The specific diversity oscillated between 0 and 2.76. The generalized linear model detected changes in the abundancy of *C. hirundinella* between the two seasons, the sites and months assayed, which were associated with differences in certain physicochemical variables (ammonium, dissolved oxygen (DO) and biological oxygen demand (BOD5)) A negative relationship was only observed between dinoflagellates and ammonium in November 2011. The present study has provided new information regarding the algal biodiversity of the Escaba dam and distribution of *C. hirundinella* in Tucumán province.

Key words: Phytoplankton, *Ceratium hirundinella*, water quality, Escaba reservoir, Tucumán, Argentina.

Resumen: El objetivo de este trabajo es analizar las variaciones espacio-temporales del fitoplancton de la zona limnética del embalse Escaba y la desembocadura de sus tributarios: ríos Chavarría, Las Moras, El Chorro y Singuil, respecto a variables fisicoquímicas para caracterizar la calidad del agua durante 2010-2012. Se determinaron 135 taxones: Bacillariophyceae (77), Chlorophyta (40), Cyanophyta (12), Euglenophyta (5) y Dinophyta (1). La densidad algal varió de 84 a 6924 ind/ml y *Ceratium hirundinella* fue dominante excepto en primavera de 2011. La clorofila *a* tuvo un rango variable a nivel temporal y espacial fluctuando entre 6 y 2511 µg/l, encontrándose mayores registros en los afluentes. Los elevados valores de biomasa y la caracterización polisapróbica de sus aguas determinaron un estado ecológico deficiente o malo. La diversidad específica osciló entre 0-2,76. El modelo lineal generalizado detectó cambios en las abundancias de *C. hirundinella* entre las dos temporadas, sitios y meses acompañados por diferencias en algunas variables fisicoquímicas (amonio, oxígeno disuelto (OD) y demanda biológica de oxígeno (DBO5)) Sólo se observó durante noviembre de 2011 una relación inversa entre la densidad del dinoflagelado con el amonio. Este trabajo aportó al conocimiento de la biodiversidad algal del embalse Escaba y amplió la distribución de *C. hirundinella* en la provincia de Tucumán.

Palabras clave: Fitoplancton, *Ceratium hirundinella*, calidad de las aguas, embalse Escaba, Tucumán, Argentina.

¹ Instituto de Ficológia (IFico), Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, T4000JFE, San Miguel de Tucumán, Argentina

² Instituto de Limnología del Noroeste Argentino (ILINOA), Facultad de Ciencias Naturales e IML, Universidad Nacional de Tucumán (UNT)

³ Unidad Ejecutora Lillo (UEL), CONICET

⁴ Cátedra de Ecología General, Facultad de Ciencias Naturales e IML, UNT

* silmdemar@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los embalses son ecosistemas artificiales creados por el hombre y su construcción se realiza con distintos fines: generación de energía eléctrica, provisión de agua potable, regulación de crecidas, turismo, etc. (Navarro *et al.*, 2010). Sin embargo, es necesario supervisar y evaluar los impactos en la calidad del agua a fin de comprender las interacciones que ocurren entre los usos de la cuenca de drenaje y la preservación o deterioro del cuerpo de agua (Tundisi, 2008).

El manejo de lagos y embalses creció de manera destacada con el uso de asociaciones de especies como indicadoras de niveles tróficos (Huszar *et al.*, 1998). La abundancia de especies fitoplanctónicas y la estructura de esta taxocenosis varían a lo largo de gradientes tróficos y estacionales según numerosos autores (Rott, 1988; del Giorgio *et al.*, 1991; Seip & Reynolds, 1995; Rojo, 1998). La eutrofización ocasiona un incremento y una alteración en la composición del fitoplancton (Reynolds, 1998; Western, 2001) en la que influyen, entre otros factores, las altas temperaturas, diferencias en la estabilidad térmica y circulación de nutrientes.

En las últimas décadas se ha incrementado significativamente el interés por la ecología de la ficoflora de los embalses debido a que un desarrollo excesivo de algunas especies puede limitar su uso recreativo como así también afectar su calidad estética, entre otros efectos (Rodríguez *et al.*, 2000). La utilización de índices biológicos en los estudios realizados por más de dos décadas en tres ambientes leníticos de la provincia de Tucumán (C. Gelsi, Río Hondo y La Angostura) resultó ser una herramienta útil para la caracterización de la calidad del agua de estos reservorios (Tracanna *et al.* 2014a). Durante los años 2004 y 2008 en el embalse Escaba, de acuerdo a información periodística de un diario local, se produjeron episodios con una gran mortandad de peces por falta de oxígeno debido a un marcado descenso del nivel de agua, aumento de nutrientes y crecimiento algal. Estos eventos motivaron el inicio de un estudio limnológico a partir de 2010 para determinar los efectos que producían las distintas actividades en el reservorio. Entre los antecedentes se puede mencionar el análisis de las variables físicas y químicas publicado en Tracanna *et al.* (2014b), donde se concluye que las fluctuaciones hidrométricas anuales coincidieron con la estacionalidad pluvial

que determina dos períodos bien definidos de aguas altas (verano-otoño) y aguas bajas (invierno-primavera). Los máximos valores de transparencia concuerdan con el período de estiaje y el reservorio se caracterizó de acuerdo a Margalef (1983) como monomítico cálido con estratificación térmica en primavera-verano, con mineralización débil y agua de tipo bicarbonatada-cálcica-sódica. En la zona limnética durante los meses cálidos, la concentración de oxígeno tuvo un gradiente mayor en el epilimnion y déficit en los estratos profundos sin alcanzar condiciones anóxicas, coincidente con la estratificación del embalse mientras que en el período de mezcla el oxígeno se mantuvo constante en la columna de agua. La mayoría de los registros de demanda biológica de oxígeno (DBO5) detectados en las desembocaduras de los ríos y en la zona limnética fueron superiores a 8 mg O₂/l. En general, el fósforo se comportó como limitante y el ecosistema estudiado se determinó como hipertrofico considerando el nitrógeno y fósforo totales y transparencia de acuerdo a la clasificación trófica propuesta en Conzonno (2009).

El objetivo de este trabajo es analizar las variaciones espacio-temporales del fitoplancton respecto a variables fisicoquímicas, para caracterizar la calidad del agua del embalse Escaba y desembocadura de sus tributarios durante 2010-2012.

Área de estudio

El embalse Escaba se encuentra localizado en el departamento Juan Bautista Alberdi, a 110 km al sur de la capital de la provincia. Es el cuarto reservorio de Tucumán en relación a sus dimensiones, su área es de aproximadamente 541 ha, tiene un volumen de 138 hm³, una profundidad de 65 m al momento del llenado y está situado a 650 m snm (Locascio de Mitrovich *et al.*, 1997; Fernández *et al.*, 2007). El sistema hidrográfico está representado por una de las cuencas más importantes de Tucumán, la del río Marapa, que recibe principalmente el aporte del embalse arriba mencionado y forma parte de la cuenca del río Salí-Dulce. En el embalse Escaba desaguan dos ríos de régimen permanente, Chavarría al norte y Singuil al sur y dos de caudales menores, Las Moras y El Chorro al oeste del espejo de agua (Fernández *et al.*, 2007). Este fue el primer reservorio construido en la provincia en 1940 y se creó para: atenuación de crecidas, riego, producción de energía hidroeléctrica y además para la recreación y promoción turística (Rearte, 1981).

La litología que se observa en los alrededores se caracteriza por areniscas tobáceas que en algunos sectores pueden presentar clastos de piedra pómez y tufitas finas alternando con bancos de toba (Fernández *et al.*, 2007).

Anualmente el embalse tiene fluctuaciones hidrométricas cíclicas, en el período comprendido entre los meses de mayo-enero, el nivel del agua desciende desde la cota máxima (631,75 m) a más de 30,00 m promedio, aumentando a partir de la segunda quincena de enero hasta alcanzar nuevamente el valor máximo. Esta fluctuación se corresponde con la marcada estación seca de la provincia (Pantorrilla & Núñez Regueiro, 2006).

El clima es templado, con inviernos secos no rigurosos y veranos cálidos, húmedos y lluviosos. Las precipitaciones medias anuales son de 1200 mm, el mes de mayor registro pluvial promedio es febrero (167 mm), el de menor es agosto (3 mm) y la temperatura media anual es de 17,6° C. La posición de los cordones montañosos hace que los vientos del este y sudeste descarguen su humedad del lado tucumano y pasen secos hacia Catamarca (Santillán de Andrés & Ricci, 1980).

El área de estudio se localiza en el pedemonte de las Sierras Subandinas, zona caracterizada por la Eco-región de las Yungas. En las cercanías, especialmente de los ríos Chavarría y Singuil, la vegetación original ha sido modificada por diversas actividades antrópicas, tales como cultivos de tabaco, citrus y caña de azúcar, obtención de leña y pastoreo de ganado vacuno y caprino.

Actualmente la actividad ganadera es uno de los principales problemas ecológicos, ya que deteriora paulatinamente la vegetación del sotobosque y permite la introducción, en general, de especies chaqueñas (Sirombra, 2003).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron ocho muestreos estacionales desde agosto de 2010 a mayo de 2012 en la zona más profunda del embalse Escaba (zona limnética) y en la desembocadura de sus cuatro tributarios. En la figura 1 se señala la ubicación de los sitios relevados los cuales fueron georreferenciados mediante GPS (48 Garmin): 1- río Chavarría (27°38,803' S; 65°47,229' O), 640 m snm; 2- río Las Moras (27°39,020' S; 65°47,197' O), 617 m snm; 3- río El Chorro (27°39,984' S; 65°46,992'

O), 632 m snm; 4- río Singuil (27°40,631' S; 65°47,102' O), 630 m snm; 5- zona limnética (27°39,565' S; 65°45,954' O), 642 m snm. En este último punto se consideraron cuatro niveles: subsuperficial (20 cm), zona fótica (visibilidad del disco de Secchi), 10 m y fondo (cuya profundidad varió según la cota). Se debe aclarar que los bajos registros hidrométricos en los meses de noviembre de 2010 y 2011 no permitieron la recolección en la desembocadura del río Las Moras.

La metodología y los resultados de las variables físicas y químicas del agua del embalse se encuentran publicados en Tracanna *et al.* (2014b).

Las muestras cualitativas del fitoplancton se tomaron con red de 20 µm de malla, mediante barridos horizontales subsuperficiales y las cuantitativas se extrajeron directamente de la subsuperficie y estratificadamente en recipientes plásticos de 250 ml y se fijaron *in situ*. Las colectas fitoplanctónicas correspondientes a las diferentes profundidades de la zona limnética, se hicieron con una trampa Schindler-Patalas. Las determinaciones de la riqueza específica y el recuento de la abundancia algal se efectuaron mediante microscopios ópticos (Leitz con dispositivo de dibujo y Leica DM LS2 y con cámara digital) e invertido (Zeiss IDO2 - 400X), respectivamente. Los análisis cuantitativos se hicieron de acuerdo a la metodología de Utermöhl (1958). Se utilizaron cámaras de sedimentación de 10 ml para la mayor parte de las muestras, sin embargo en algunos ríos se debió emplear de 2 ml debido a la excesiva cantidad de individuos. Las muestras fueron depositadas en la Colección Ficológica del Herbario Criptogámico de la Fundación Miguel Lillo con la numeración de LIL 22.000 al 22.186.

Para jerarquizar la dominancia de las especies fitoplanctónicas se hizo un diagrama de Olmstead-Tukey. Las especies dominantes, constantes, ocasionales y raras se determinaron a partir de la relación entre las densidades de los organismos y sus frecuencias de aparición. Para ello, en la confección del gráfico se tuvieron en cuenta las medias de la frecuencia de aparición relativa y del logaritmo de la densidad absoluta (Sokal & Rohlf, 1981).

En la determinación de la biomasa (expresada como µg de clorofila *a/l*) se siguió la metodología propuesta por Loez (1995) para la extracción de muestras, procesamiento y cálculo.

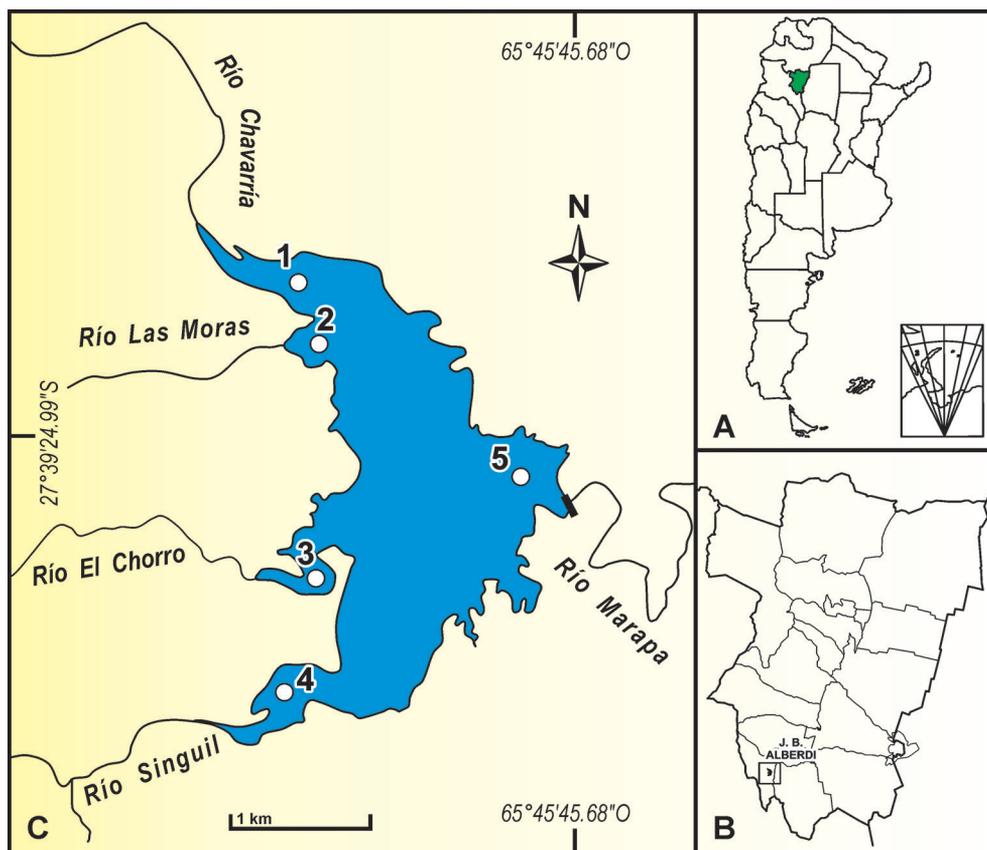


Fig. 1. A: Ubicación de la provincia de Tucumán, Argentina. B: Embalse Escaba en Tucumán. C: Área de estudio y sitios de muestreo: 1- R. Chavarría; 2- R. Las Moras; 3- R. El Chorro; 4- R. Singuil; 5- Zona limnética.

La diversidad fitoplanctónica se estimó aplicando el índice de Shannon-Weaver (Magurran, 2004). El índice y los intervalos de confianza con la técnica bootstrap fueron obtenidos mediante el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2013).

En la evaluación de la calidad del agua se empleó el índice sapróbico (IS) de Pantle & Buck (1955) según el grado sapróbico que considera el comportamiento regional de las especies fitoplanctónicas teniendo en cuenta la DBO₅ (Hamm, 1969).

Además, se efectuó un análisis de correlación (coeficiente de Spearman: $p < 0,05$ * y $p < 0,01$ **) entre las variables físicas, químicas y biológicas, mediante el uso del programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2013).

Se aplicó el modelo lineal generalizado (MLG) que permitió relacionar una variable respuesta y variables explicativas mediante el uso de otras funciones de

errores debido a que la distribución no fue normal (McCullagh & Nelder, 1983). En este caso, como en los recuentos de *C. hirundinella* se detectó una sobredispersión (alta variabilidad expresada como mayor varianza que la media), los errores aleatorios fueron ajustados a una distribución binomial negativa. Entre varios modelos elaborados donde se relacionó la variable respuesta (abundancia de *C. hirundinella*) y las variables explicativas (temporales (temporada 1: agosto 2010-mayo 2011; temporada 2: agosto 2011-mayo 2012) y meses), sitios de muestreo y fisicoquímicas) se escogió aquel que presentó el menor valor de AIC (criterio de información de análisis) (Akaike, 1973). Los parámetros fisicoquímicos (OD, DBO₅, conductividad eléctrica (CE), ortofosfato, NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺) seleccionados para el modelo tuvieron correlaciones menores al 75% para evitar multicolinealidad (Coeficiente de Correlación de

Pearson). Los análisis fueron realizados a través del paquete MASS correspondiente al software R 3.4 (R Development Core Team, 2005). Para interpretar los coeficientes de parámetros estimados en el MLG binomial negativo se utilizaron las relaciones de las variables del modelo matemático examinando el porcentaje de cambio (PC) en las cantidades esperadas, el cual se define como $PC = 100 \times [\exp(b) - 1]$, donde b es el coeficiente de regresión binomial negativo estimado. El modelo señala el porcentaje de cambio esperado en la variable respuesta por una unidad de cambio en la variable predictora o explicativa manteniendo a todas las otras predictoras constantes (Beaujean & Morgan, 2016).

RESULTADOS

Se registraron un total de 127 especies, 7 variedades y 2 formas (Tabla 1) pertenecientes a las Divisiones: Chlorophyta (40), Cyanophyta (12), Euglenophyta (5), Dinophyta (1) y a la Clase Bacillariophyceae (77). Se observaron 54 taxones comunes a todos los sitios, mientras que fueron exclusivos de la zona limnética 21 y de la desembocadura de los tributarios 61. La Tabla 2 muestra los valores mínimos que fluctuaron entre 2 y 12 especies y los máximos que oscilaron entre 21 y 56 taxones.

Las diatomeas, en general, sobresalieron por su riqueza en todas las zonas muestreadas excepto en el río El Chorro (mayo y noviembre de 2011) y en los tres primeros niveles de la zona limnética (noviembre de 2011) donde se destacaron las algas verdes. En la diatomoflora predominaron las pennadas con 28 taxones, especialmente en las desembocaduras, y las céntricas estuvieron representadas por 7 especies. En la primavera de 2011 las clorofitas alcanzaron el mayor número de taxones entre 12 y 20, mientras que en el resto de los meses su presencia fluctuó entre 1 y 6.

Los euglenoides fueron registrados en el río Las Moras durante todo el período muestreado y en las desembocaduras de los otros ríos sólo se observaron en agosto de 2010 y/o noviembre de 2011 y en la zona limnética (subsuperficie) en la primavera de 2011.

Las algas azules estuvieron presentes con bajo número de taxones, hasta 4 en la zona más profunda del embalse. Las especies más

frecuentes fueron: *Ceratium hirundinella* (O. Müller) Dujardin (98%), *Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen (90%), *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Comperè (56%), *Melosira varians* C. Agardh (47%), *Cocconeis placentula* Ehrenberg (40%), *A. granulata* var. *angustissima* (O. Müller) Simonsen (37%), *Diatoma vulgare* Bory (37%) y *Botryococcus braunii* Kützing (34%).

En la figura 2 se observa que la riqueza específica mostró una variación temporal similar entre los sitios. En noviembre de 2011 se destaca un notable aumento de taxones en los ríos Singuil, Chavarría y en el fondo de la zona limnética, esta última en general tuvo los máximos valores durante el período estudiado. Los géneros que aportaron el mayor número de especies correspondieron a: *Nitzschia* y *Pinnularia* (8), *Scenedesmus* (7), *Gomphonema* (5) y *Pediastrum* (4).

La abundancia fitoplanctónica del embalse Escaba estuvo representada por 78 taxones (Tabla 3). En la figura 3A-E se observa que *C. hirundinella* fue dominante en todo el cuerpo léntico, excepto en la primavera de 2011 cuando el registro de esta Dinophyta fue escaso en la zona limnética con sólo 1-3 ind/ml y nulo en las desembocaduras. La máxima densidad de *C. hirundinella* se obtuvo en el río Singuil en marzo de 2011 con 6922 ind/ml. En primavera de 2011 las Chlorophyta predominaron sobre todos los grupos algales. En la zona limnética sobresalieron *Monoraphidium pusillum* (Printz) Komárková-Legnorová (586 ind/ml), *Uva* sp. (328 ind/ml), *Tetradesmus obliquus* (Turpin) M. J. Wynne (160 ind/ml), *Chlamydomonas globosa* J. W. Snow (83 ind/ml) y *Desmodesmus spinosus* (Chodat) E. H. Hegewald (66 ind/ml). También en las desembocaduras dominaron las especies de algas verdes, en el caso del Chavarría con *Uva* sp. (361 ind/ml), *Oocystis* sp. (25 ind/ml) y *Scenedesmus ecornis* (Ehrenberg) Chodat (21 ind/ml). En el río El Chorro se destacaron *Oocystis* sp., *Chlorococcum* sp., *Uva* sp. y *Monoraphidium* sp., con valores máximos de 776, 218, 183 y 73 ind/ml, respectivamente y en el Singuil predominaron *Uva* sp. con 468 ind/ml seguida por *Oocystis* sp. con 184 ind/ml y *Monoraphidium* sp. con 47 ind/ml. Las diatomeas, en general, estuvieron representadas por un número menor de individuos, alcanzando un máximo de 159 ind/ml en el río Las Moras durante el invierno de

Tabla 1. Fitoplancton del embalse Escaba y de la desembocadura de sus ríos tributarios: Chavarría (RCH), Las Moras (RLM), El Chorro (RECH), Singuil (RS), Zona Limnética (ZL) en el período 2010-2012.

	RCH	RLM	RECH	RS	ZL
División Cyanophyta					
Clase Cyanophyceae					
<i>Leptolyngbya foveolarum</i> (Rabenhorst ex Gomont) Anagnostidis & Komárek				X	X
<i>Limnothrix redekei</i> (Goor) Meffert					X
<i>Lyngbya</i> sp.	X			X	
<i>Merismopedia glauca</i> (Ehrenberg) Kützing		X			
<i>Merismopedia</i> sp.			X		
<i>Oscillatoria</i> sp.	X	X		X	
<i>Phormidium allorgei</i> (Frémy) Anagnostidis & Komárek		X			X
<i>P. puteale</i> (Montagne ex Gomont) Anagnostidis & Komárek					X
<i>P. subfuscum</i> Kützing ex Gomont					X
<i>Phormidium</i> sp.				X	
<i>Planktolyngbya subtilis</i> (West) Anagnostidis & Komárek					X
<i>Pseudanabaena</i> sp.				X	
División Chlorophyta					
<i>Ankistrodesmus fusiformis</i> Corda	X		X	X	X
<i>Botryococcus braunii</i> Kützing	X	X	X	X	X
<i>Chlamydomonas globosa</i> J. W. Snow	X			X	X
<i>Chlorococcum</i> sp.			X		
<i>Closterium leibleinii</i> Kützing ex Ralfs				X	X
<i>C. moniliferum</i> var. <i>concauum</i> Klebs				X	X
<i>Closterium</i> sp.	X			X	
<i>Cosmarium subtumidum</i> Nordstedt				X	
<i>Cosmarium</i> sp.	X	X	X	X	
<i>Desmodesmus armatus</i> var. <i>longispina</i> (Chodat) E. H. Hegewald	X				
<i>D. spinosus</i> (Chodat) E. H. Hegewald					X
<i>Eudorina elegans</i> Ehrenberg	X	X	X	X	X
<i>Monoraphidium pusillum</i> (Printz) Komárková-Legnárová	X		X	X	X
<i>Monoraphidium</i> sp.	X	X	X	X	
<i>Oedogonium</i> sp.	X		X		X
<i>Oocystis solitaria</i> Wittrock			X	X	
<i>Oocystis</i> sp.	X	X	X	X	
<i>Pandorina morum</i> (O. Müller) Bory					X
<i>Pediastrum boryanum</i> (Turpin) Meneghini			X	X	X
<i>P. boryanum</i> var. <i>brevicorne</i> A. Braun	X			X	
<i>P. duplex</i> Meyen			X	X	X
<i>P. duplex</i> var. <i>punctatum</i> (Willi Krieger) Parra	X				
<i>Pediastrum</i> sp.					X
<i>Scenedesmus acutus</i> f. <i>costulatus</i> (Chodat) Uherkovich	X			X	X
<i>S. arcuatus</i> (Lemmermann) Lemmermann			X		

S. N. Martínez de Marco *et al.* - Fitoplancton del embalse Escaba

	RCH	RLM	RECH	RS	ZL
<i>S. brevispina</i> (G. M. Smith) Chodat	X				
<i>S. ecornis</i> (Ehrenberg) Chodat	X		X	X	X
<i>S. ecornis</i> var. <i>disciformes</i> (Chodat) Chodat					X
<i>S. ovalternus</i> var. <i>graevenitzii</i> (C. Bernard) Chodat			X		
<i>S. quadricauda</i> (Turpin) Brébisson	X	X	X	X	X
<i>Scenedesmus</i> sp.	X		X	X	
<i>Selenastrum</i> sp.	X		X		X
<i>Sphaerocystis schroeteri</i> Chodat	X			X	
<i>Spirogyra</i> sp.	X	X		X	X
<i>Stauridium tetras</i> (Ehrenberg) E. Hegewald	X		X	X	X
<i>Stigeoclonium</i> sp.	X			X	X
<i>Tetradesmus lagerheimii</i> M. J. Wynne & Guiry			X		
<i>T. obliquus</i> (Turpin) M. J. Wynne			X	X	X
<i>Tetraedron</i> sp.					X
<i>Uva</i> sp.	X		X	X	X
División Dinophyta					
Clase Dinophyceae					
<i>Ceratium hirundinella</i>	X	X	X	X	X
División Heterokontophyta					
Clase Bacillariophyceae					
<i>Achnanthes coarctata</i> (Brébisson ex W. Smith) Grunow				X	
<i>Amphipleura lindheimeri</i> Grunow		X		X	X
<i>Amphora ovalis</i> (Kützing) Kützing				X	X
<i>Amphora</i> sp.				X	X
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	X	X	X	X	X
<i>A. granulata</i> var. <i>angustissima</i> (O. Müller) Simonsen	X	X	X	X	X
<i>Caloneis westii</i> (W. Smith) Hendey				X	
<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	X	X	X	X	X
<i>Craticula ambigua</i> (Ehrenberg) D. G. Mann	X			X	X
<i>C. cuspidata</i> (Kützing) D. G. Mann				X	X
<i>Craticula</i> sp.	X				
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	X		X	X	X
<i>Cymatopleura solea</i> (Brébisson) W. Smith				X	
<i>Cymbella affinis</i> Kützing	X	X	X	X	X
<i>C. simonsenii</i> Krammer				X	
<i>C. tumida</i> (Brébisson) Van Heurck	X				X
<i>Cymboplectra amphicephala</i> (Nägeli) Krammer			X		X
<i>Diatoma vulgare</i> Bory	X	X	X	X	X
<i>Diploneis boldtiana</i> P. Cleve				X	
<i>D. ovalis</i> (Hilse) Cleve					X
<i>Epithemia argus</i> (Ehrenberg) Kützing				X	
<i>Epithemia</i> sp.				X	

	RCH	RLM	RECH	RS	ZL
<i>Eunotia praerupta</i> Ehrenberg				X	
<i>Eunotia</i> sp.				X	
<i>Fragilaria capucina</i> Desmazières			X		
<i>Fragilaria</i> sp.	X		X	X	
<i>Frustulia vulgaris</i> (Thwaites) De Toni					X
<i>Frustulia</i> sp.	X				X
<i>Gomphonema acuminatum</i> Ehrenberg				X	
<i>G. clavatum</i> Ehrenberg	X	X	X	X	X
<i>G. olivaceum</i> (Hornemann) Brébisson			X	X	
<i>G. parvulum</i> (Kützing) Kützing					X
<i>G. truncatum</i> Ehrenberg	X			X	X
<i>Gomphonema</i> sp.		X	X	X	X
<i>Gyrosigma</i> sp.				X	X
<i>Hantzschia amphioxys</i> (Ehrenberg) Grunow			X	X	X
<i>Hyalodiscus</i> sp.				X	
<i>Iconella linearis</i> (W. Smith) Ruck & Nakov					X
<i>I. tenera</i> (W. Gregory) Ruck & Nakov	X				
<i>Lemnicola hungarica</i> (Grunow) Round & Basson		X			
<i>Luticola dapalis</i> (Frenguelli) D. G. Mann	X				
<i>L. goeppertiana</i> (Bleisch) D. G. Mann				X	X
<i>L. mutica</i> (Kützing) D. G. Mann	X				
<i>Melosira varians</i> Agardh	X	X	X	X	X
<i>Navicula amphiceropsis</i> Lange-Bertalot & U. Rumrich	X		X	X	
<i>N. menisculus</i> Schumann				X	
<i>Navicula</i> sp.	X	X	X	X	
<i>Nitzschia acicularis</i> (Kützing) W. Smith				X	
<i>N. gracilis</i> Hantzsch					X
<i>N. linearis</i> (Agardh) W. Smith		X			X
<i>N. obtusa</i> W. Smith			X	X	
<i>N. palea</i> (Kützing) W. Smith		X			X
<i>N. sigma</i> (Kützing) W. Smith	X			X	
<i>N. tryblionella</i> Hantzsch	X				
<i>N. vermicularis</i> (Kützing) Hantzsch					X
<i>Nitzschia</i> spp.	X	X	X	X	
<i>Orthoseira</i> sp.	X			X	X
<i>Pinnularia acrosphaeria</i> W. Smith	X		X	X	X
<i>P. borealis</i> Ehrenberg			X		
<i>P. gibba</i> Ehrenberg				X	X
<i>P. gibba</i> var. <i>linearis</i> Hustedt					X
<i>P. interrupta</i> W. Smith					X
<i>P. maior</i> (Kützing) Rabenhorst	X				
<i>P. subcapitata</i> Gregory					X

S. N. Martínez de Marco *et al.* - Fitoplancton del embalse Escaba

	RCH	RLM	RECH	RS	ZL
<i>P. viridis</i> (Nitzsch) Ehrenberg	X	X			X
<i>Pinnularia</i> sp.	X			X	
<i>Placoneis clementis</i> (Grunow) E. J. Cox			X		
<i>Pleurosira laevis</i> (Ehrenberg) Compère	X				
<i>Reimeria uniseriata</i> S. E. Sala, J. M. Guerrero & M. E. Ferrario				X	X
<i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (Agardh) Lange-Bertalot	X				X
<i>Rhopalodia gibba</i> (Ehrenberg) O. Müller				X	X
<i>R. gibberula</i> (Ehrenberg) O. Müller				X	
<i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Mereschkovsky	X		X		X
<i>Staurosira construens</i> Ehrenberg					X
<i>Surirella brebissonii</i> Krammer & Lange-Bertalot		X			
<i>S. ovalis</i> Brébisson				X	X
<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère	X	X	X	X	X
Div. Euglenophyta					
Clase Euglenophyceae					
<i>Euglenaformis proxima</i> (Dangeard) M. S. Bennett & Triemer	X				
<i>Euglena</i> sp.	X	X	X	X	
<i>Phacus</i> sp. 1	X	X		X	
<i>Phacus</i> sp. 2					X
<i>Trachelomonas</i> sp.	X	X			

Tabla 2. Riqueza específica, densidad y clorofila *a* en el embalse Escaba (periodo 2010-2012).
Abreviaturas: Mín: mínimo; Máx: máximo; Prom: promedio; DE: desviación estándar.

Sitios de muestreo	Riqueza específica				Densidad (ind/ml)				Clorofila <i>a</i> (µg/l)			
	Mín	Máx	Prom	DE	Mín	Máx	Prom	DE	Mín	Máx	Prom	DE
Zona Limnética (Subsuperficial)	2	30	12	9	278	1823	1010	589	19	714	291	245
Zona Limnética (Secchi)	3	21	8	6	221	4395	1541	1471	s/d	s/d	s/d	s/d
Zona Limnética (10 m)	3	23	9	6	355	2510	1118	790	s/d	s/d	s/d	s/d
Zona Limnética (Fondo)	5	45	24	11	84	1996	656	729	6	706	182	245
Río Chavarría	2	47	13	16	223	5760	1552	1780	7	304	110	110
Río Las Moras	12	25	17	5	580	1462	1018	331	15	1379	506	653
Río El Chorro	2	23	10	8	724	6001	2497	1946	24	2511	657	896
Río Singuil	3	56	17	19	174	6924	3514	2703	11	1800	719	657

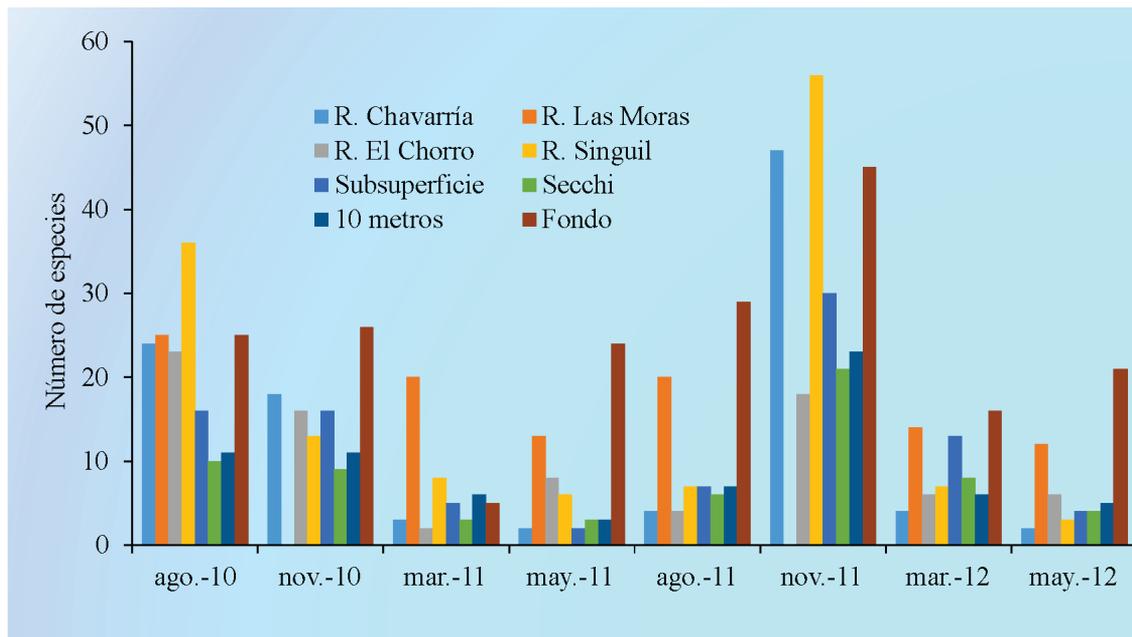


Fig. 2. Fluctuaciones de la riqueza específica fitoplanctónica en los sitios de muestreo del embalse Escaba. ago: agosto, nov: noviembre, mar: marzo, may: mayo. Los niveles que corresponden a la Zona limnética son: Subsuperficial, Secchi, 10 m y Fondo.

2010 con *Pinnularia viridis* (Nitzsch) Ehrenberg (30 ind/ml), *U. ulna* (19 ind/ml), *D. vulgaris* y *Nitzschia linearis* (Agardh) W. Smith ambas con 16 ind/ml. Las cianobacterias se destacaron especialmente en el fondo de la zona limnética y en el río Las Moras y los euglenoides se cuantificaron solamente en las desembocaduras.

En la Tabla 2 se muestran los valores descriptivos de las variables densidad y clorofila *a* para el embalse Escaba durante todo el período de estudio. En la zona limnética el máximo de densidad algal obtenido de la suma de las abundancias en toda la columna de agua (10217 ind/ml) ocurrió durante la primavera de 2010, período de aguas bajas y escasa transparencia y fue 2,4 veces mayor que el promedio de los años estudiados (4325 ind/ml). En los muestreos de invierno (aguas bajas) la abundancia fitoplanctónica fue similar en todo el perfil con un total de 986 (agosto de 2010) y 1298 ind/ml (agosto de 2011). Los mayores registros de densidad algal ocurrieron en general a la profundidad de la lectura del disco de Secchi o a los 10 metros, con una disminución hacia el fondo, a excepción de marzo de 2011 que fue a la inversa (Fig. 4A).

En la figura 4B se aprecia que las fluctuaciones de las densidades del fitoplancton en la desembocadura de los ríos, en general, se comportaron de manera similar disminuyendo en aguas bajas. En el Singuil se registraron los valores mínimo (174 ind/ml, invierno de 2010) y máximos (6922 y 6924 ind/ml en noviembre de 2010 y marzo de 2011, respectivamente). Las Moras tuvo, generalmente, menores abundancias respecto a los otros tributarios.

En la zona limnética, en el período de mezcla, se registró el mínimo valor de clorofila *a* en la parte más profunda del embalse con 6 µg/l (agosto de 2010) y el máximo se midió en la subsuperficie con 378 µg/l (mayo de 2012). En períodos estratificados, los datos de biomasa, tanto el menor como el mayor, se obtuvieron en subsuperficie con 19 y 714 µg/l en noviembre y marzo de 2011, respectivamente. En la desembocadura de los cuatro tributarios para agosto de 2010 y noviembre de 2011 se observaron los valores más bajos de clorofila *a* que fluctuaron entre 7 y 69 µg/l. En los ríos Las Moras, El Chorro y Singuil para marzo y mayo de 2011 se dieron los mayores registros de biomasa que variaron

Tabla 3. Valores máximos de abundancia del fitoplancton del embalse Escaba (ind/ml). Ríos: Chavarría (RCH), Las Moras (RLM), El Chorro (RECH), Singuil (RS), Zona Limnética (subsuperficial (LSU), Secchi (LSE), 10 metros (L10), fondo (LF)). Abr.: Abreviaturas utilizadas en el diagrama de Olmstead-Tukey.

Abr.		RCH	RLM	RECH	RS	LSU	LSE	L10	LF
División Cyanophyta									
	<i>Leptolyngbya foveolarum</i>								27
	<i>Lyngbya</i> sp.	1							
	<i>Merismopedia</i> sp.			1					
Os	<i>Oscillatoria</i> sp.		14						
Pa	<i>Phormidium allorgei</i>		3						7
	<i>Phormidium</i> sp.				2				
Ps	<i>Planktolyngbya subtilis</i>								8
División Chlorophyta									
Af	<i>Ankistrodesmus fusiformis</i>			10	4	2		2	
Bb	<i>Botryococcus braunii</i>		3			2			
Cg	<i>Chlamydomonas globosa</i>					83	19		
Ch	<i>Chlorococcum</i> sp.			218					
Co	<i>Cosmarium</i> sp.		7	1					
Ds	<i>Desmodesmus spinosus</i>					1	7	66	7
Ee	<i>Eudorina elegans</i>	2	11	4					
Mp	<i>Monoraphidium pusillum</i>					18	586	545	
Mo	<i>Monoraphidium</i> sp.	4		73	47				
Oo	<i>Oocystis solitaria</i>			4					
Od	<i>Oocystis</i> sp.	25	13	776	184				
	<i>Pandorina morum</i>					1			
Pb	<i>Pediastrum boryanum</i>								1
	<i>P. boryanum</i> var. <i>brevicorne</i>				5				
	<i>Pediastrum</i> sp.						2		
Sc	<i>Scenedesmus acutus</i> f. <i>costulatus</i>	1			2	4			6
	<i>S. arcuatus</i>			5					
Se	<i>S. ecornis</i>	21		4	1	9			3
Sd	<i>S. ecornis</i> var. <i>disciformes</i>					17	10	21	
Sq	<i>S. quadricauda</i>	3	7	22	4	9	14		7
Sp	<i>Scenedesmus</i> sp.	2		1	3				
Sl	<i>Selenastrum</i> sp.	3		1				7	
Sp	<i>Sphaerocystis schroeteri</i>	1			3				
Sg	<i>Spirogyra</i> sp.		7		2				
St	<i>Stauridium tetras</i>	1		2	1		2		
	<i>Tetradesmus lagerheimii</i>			3					
To	<i>T. obliquus</i>			6	9	18	160	50	29
	<i>Tetraedron</i> sp.						3	3	
Us	<i>Uva</i> sp.	361		183	468	328	221	41	14
División Dinophyta									
Ch	<i>Ceratium hirundinella</i>	5756	1441	5985	6922	1804	4391	2503	1908

Abr.		RCH	RLM	RECH	RS	LSU	LSE	L10	LF
División Heterokontophyta									
Clase Bacillariophyceae									
Al	<i>Amphipleura lindheimeri</i>		6						2
Ao	<i>Amphora ovalis</i>								2
Ag	<i>Aulacoseira granulata</i>	9	11	9	3	9	4	3	17
Aa	<i>A. granulata</i> var. <i>angustissima</i>			4	3	4		1	19
Cp	<i>Cocconeis placentula</i>	1	13	2	3	3			5
Ca	<i>Craticula ambigua</i>					1			
Cc	<i>C. cuspidata</i>					1			2
	<i>Craticula</i> sp.	3							
Cm	<i>Cyclotella meneghiniana</i>	5		2	11	1			
Cf	<i>Cymbella affinis</i>		13	3					2
Ct	<i>C. tumida</i>								15
Cy	<i>Cymbopleura amphicephala</i>					4			5
Dv	<i>Diatoma vulgare</i>		16						3
Fd	<i>Fragilaria</i> sp.	2		4					
Gc	<i>Gomphonema clavatum</i>				7				2
	<i>G. olivaceum</i>			1	11				
Gp	<i>G. parvulum</i>					1			4
Gt	<i>G. truncatum</i>	2							5
Gd	<i>Gomphonema</i> sp.		10	2	1	1			6
Ha	<i>Hantzschia amphioxys</i>								1
Mv	<i>Melosira varians</i>	4	5	4				2	1
Na	<i>Navicula amphiceropsis</i>			3	3				
Nd	<i>Navicula</i> sp.		10	4	4				
Ng	<i>Nitzschia gracilis</i>					2			4
Nl	<i>N. linearis</i>		16			1			1
No	<i>N. obtusa</i>			2					
Np	<i>N. palea</i>		5			13			12
	<i>Nitzschia</i> spp.	4	6	4	4				
Pia	<i>Pinnularia acrosphaeria</i>								1
Pg	<i>P. gibba</i>								1
Ps	<i>P. subcapitata</i>								1
Pv	<i>P. viridis</i>		30						
	<i>Pinnularia</i> sp.				1				
Ra	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>								2
Sp	<i>Sellaphora pupula</i>	3		1					4
Sc	<i>Staurosira construens</i>					5			12
Uu	<i>Ulnaria ulna</i>	1	19		1	3	1	2	7
Div. Euglenophyta									
Ed	<i>Euglena</i> sp.	2	9	14	3				
Ph	<i>Phacus</i> sp.				2				
Tr	<i>Trachelomonas</i> sp.		9						

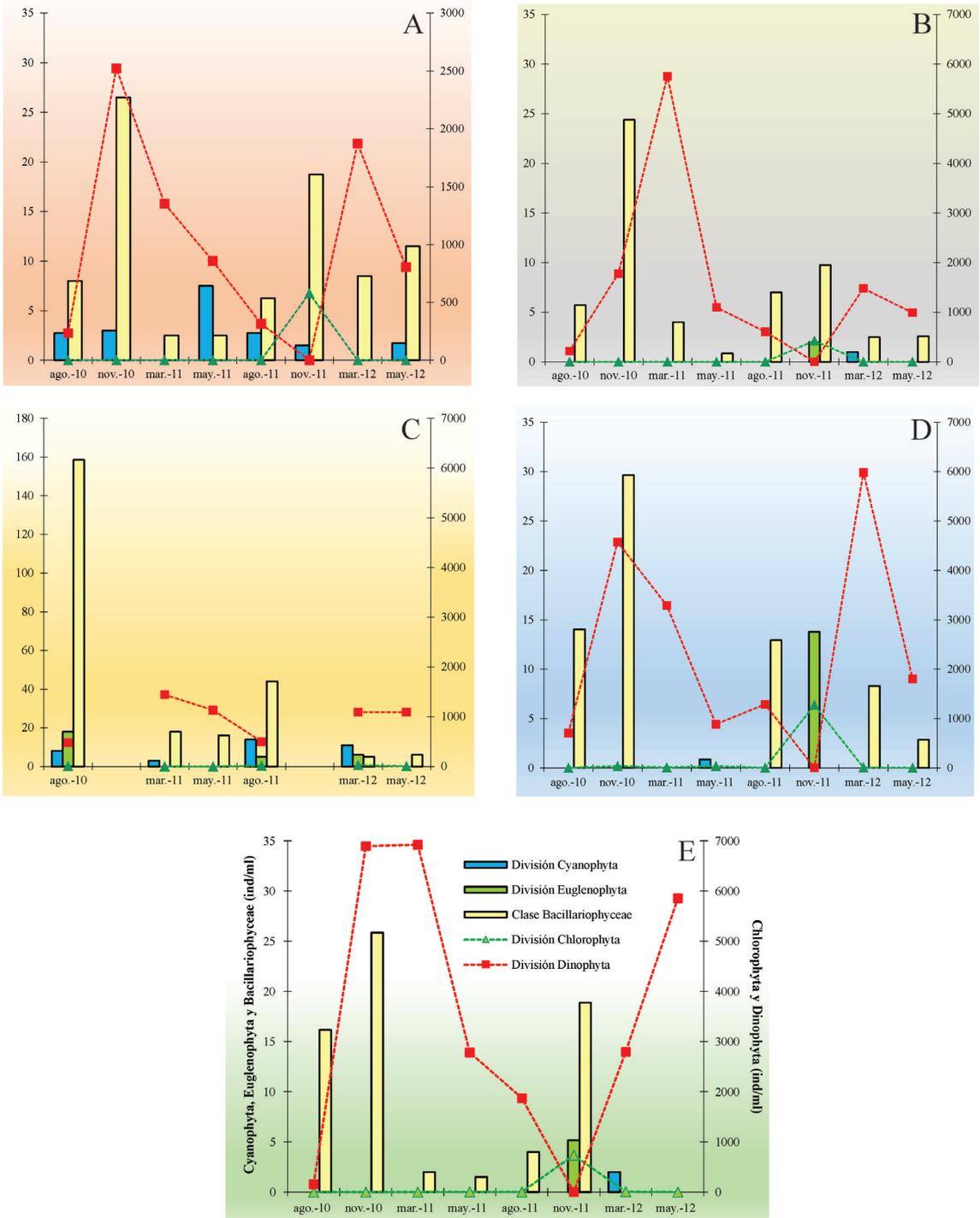


Fig. 3. Variaciones estacionales de las densidades de los grupos fitoplanctónicos encontrados en el embalse Escaba. **A:** Zona Limnética, **B:** R. Chavarría, **C:** R. Las Moras, **D:** R. El Chorro, **E:** R. Singuil. ago: agosto, nov: noviembre, mar: marzo, may: mayo.

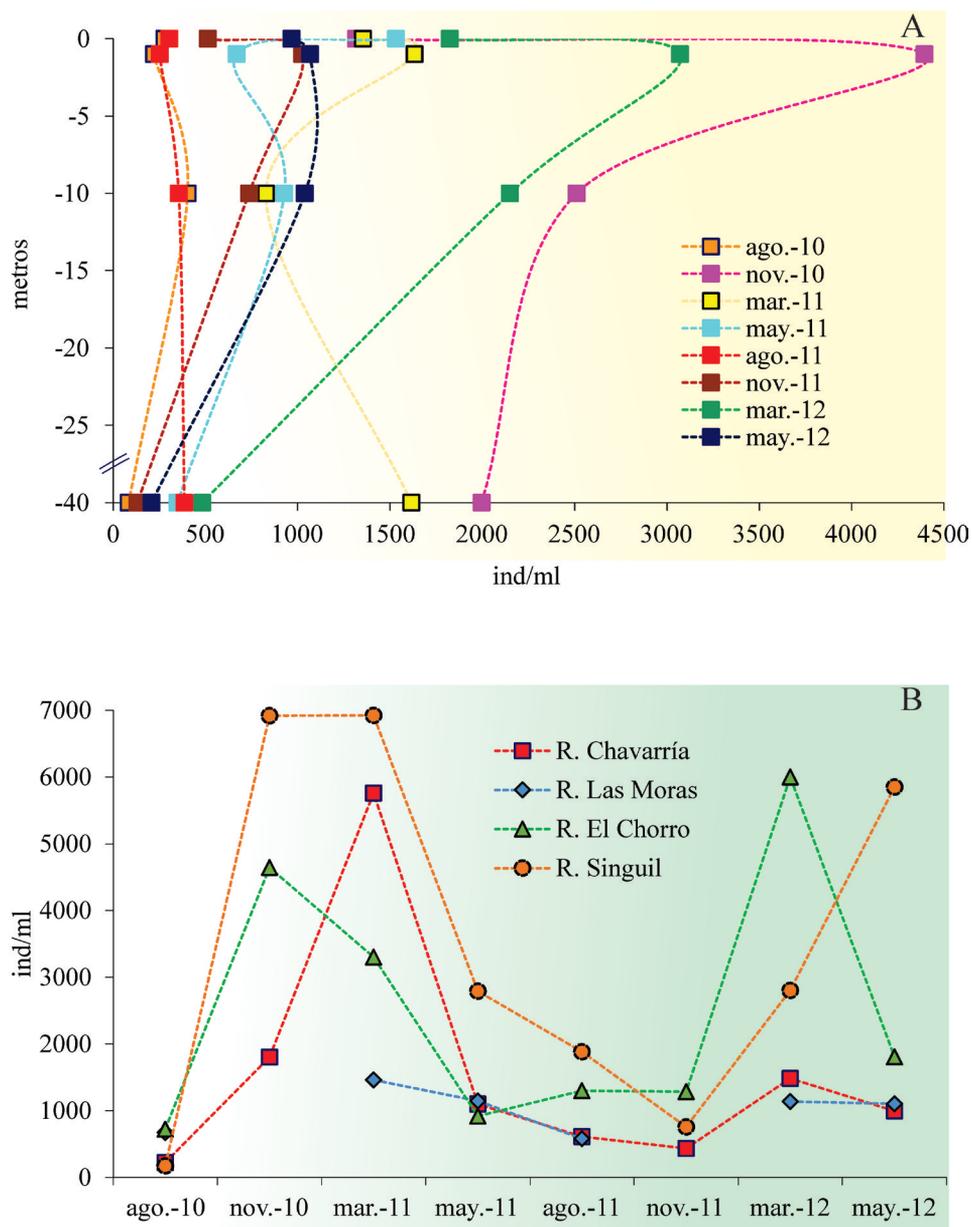


Fig. 4. A: Perfil de las abundancias totales del fitoplancton en los cuatro niveles de la zona limnética del embalse: Subsuperficial, Secchi (0,51-2,40 m), 10 m y fondo. **B:** Variaciones de las densidades totales en la desembocadura de los tributarios. ago: agosto, nov: noviembre, mar: marzo, may: mayo.

dentro de un rango de 1279 a 2511 $\mu\text{g/l}$. Las correlaciones significativas de esta variable con las fisicoquímicas y otras biológicas se indican en la Tabla 4.

En el diagrama de Olmstead-Tukey (Fig. 5) se observó que nueve especies fueron dominantes. En esta asociación se destacó *C. hirundinella*, que

fue la más abundante y frecuente, acompañada por *A. granulata*, *U. ulna*, *C. placentula*, *A. granulata* var. *angustissima*, *M. varians*, *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith, *D. vulgaris* y *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson. Fueron constantes tres diatomeas (*Cymbopyleura amphicephala* (Nägeli) Krammer, *Gomphonema*

Tabla 4. Correlación de Spearman entre las variables biológicas y fisicoquímicas. Abreviaturas: Bacillario.= Bacillariophyceae; Chloro.:= Chlorophyta; Cyano.= Cyanophyta; Dino.=Dinophyta; Eugle.= Euglenophyta; I.S.= Índice sapróbico; C.E = Conductividad eléctrica; Dens. total= Densidad total; Div. espec.= Diversidad específica; NO₃⁻: nitrato; NO₂⁻: nitrito; Nt= nitrógeno total; PO₄³⁻= ortofosfato; Pt= fósforo total; Riq. espec.= Riqueza específica.

	Bacillario.	C.E.	Chloro.	Clorofila a	Cyano.	DBO ₅	Dens. total	Dino.	Div. espec.	Eugle.	I.S.	NO ₃ ⁻	Nt	PO ₄ ³⁻	Pt	Temperatura
C.E.		,49**														
DBO ₅				,54**												
Dens. total				,59**		,61**										
Dino.				,62**		,52**	,95**									
Eugle.			,60**		,42**			-,49**	,59**							
I.S.	-,59**	-,47**	-,45**				,61**	,70**	-,87**	-,58**						
NO ₃ ⁻		,46**														
Nt				,65**		,45**	,65**	,67**	,53**		,45**					
PO ₄ ³⁻	,60**	,61**		-,55**			-,47**	-,54**	,61**		-,51**	,43**	-,49**			
Profundidad			-,47**							-,44**						
Pt				,58**		,78**	,65**	,58**						,47**		
Riq. espec.	,58**	,74**	,43**	-,45**				-,49**	,73**		-,60**			,58**		
Temperatura				,42**		,80**	,54**							,52**	,68**	
Transparencia				-,45**		-,78**	-,65**	-,48**						-,56**	-,56**	-,81**

Tabla 5. Diversidad específica (Índice de Shannon-Weaver).

Zona limnética				
	Subsuperficie	Secchi	10 metros	Fondo
Aug-10	0,38 (0,23-0,5)	0,03 (0-0,08)	0,03 (0-0,07)	1,03 (0,7-1,23)
Nov-10	0,09 (0,05-0,13)	0,01 (0-0,02)	0,02 (0,01-0,04)	0,29 (0,23-0,33)
Mar-11	0,02 (0-0,04)	0,01 (0-0,02)	0,02 (0-0,04)	0,01 (0-0,02)
May-11	0	0	0	0,5 (0,37-0,6)
Aug-11	0,14 (0,05-0,22)	0,05 (0-0,1)	0,03 (0-0,08)	0,37 (0,24-0,47)
Nov-11	1,35 (1,21-1,44)	1,19 (1,13-1,25)	0,97 (0,88-1,04)	2,76 (2,49-2,81)
Mar-12	0,07 (0,04-0,1)	0	0	0,21 (0,11-0,28)
May-12	0,01 (0-0,02)	0	0	1,07 (0,84-1,23)
Desembocadura de los Tributarios				
	R. Chavarría	R. Las Moras	R. El Chorro	R. Singuil
Aug-10	0,14 (0,05-0,23)	1,38 (1,25-1,49)	0,14 (0,08-0,19)	0,52 (0,32-0,67)
Nov-10	0,10 (0,06-0,13)	s/d	0,09 (0,07-0,11)	0,03 (0,02-0,04)
Mar-11	0,01 (0-0,02)	0,10 (0,06-0,14)	0,02 (0,01-0,03)	0
May-11	0,01 (0-0,02)	0,09 (0,05-0,13)	0,23 (0,17-0,28)	0,01 (0-0,02)
Aug-11	0,06 (0,03-0,1)	0,72 (0,6-0,83)	0,06 (0,04-0,09)	0,03 (0,01-0,05)
Nov-11	0,81 (0,66-0,93)	s/d	1,2 (1,14-1,24)	1,19 (1,09-1,26)
Mar-12	0,02 (0-0,04)	0,25 (0,19-0,31)	0,02 (0,01-0,03)	0,03 (0,01-0,04)
May-12	0,02 (0-0,04)	0,07 (0,04-0,1)	0,01 (0-0,03)	0

Referencias: Entre paréntesis se señala el intervalo de confianza calculado por técnica Bootstrap. Se resaltan los valores significativos ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

La composición taxonómica del embalse Escaba tuvo un considerable número de especies destacándose las diatomeas sobre otros grupos algales. Al comparar nuestros resultados, en general, no fueron coincidentes con otros embalses de Tucumán en los que estuvieron en primer término las algas verdes (Seeligmann & Tracanna, 1994, 2009; Locascio de Mitrovich *et al.*, 1997; Tracanna *et al.*, 1999, 2000, 2006, 2014a; Martínez De Marco & Tracanna, 2001; Seeligmann *et al.*, 2001). Salusso & Moraña (2014) en su inventario de especies del fitoplancton de los embalses Cabra Corral y El Tunal (Salta) también hicieron referencia a las clorofitas como grupo sobresaliente de un total de 334 especies. En el embalse Yacyretá (Argentina-Paraguay), Meichtry de Zaburlín *et al.* (2013) observaron una situación semejante al reservorio estudiado en este trabajo.

En Escaba sobresalió la presencia prácticamente constante de *C. hirundinella*. Esta especie planctónica, dulceacuícola y alóctona es característica de ambientes meso-eutróficos y suele originar floraciones, colorear el agua y transmitirle olor desagradable e incluso puede provocar mortandad de peces (Boltovskoy, 2005). Su dominancia se asoció a condiciones indeseables en la calidad del agua, ya que el exceso de este dinoflagelado produce alteraciones ecosistémicas que afectan la integridad biológica del ambiente y reducen el valor del reservorio como fuente de recreación. Las mayores densidades de *C. hirundinella*, en general, se dieron a temperaturas altas (superiores a 20 °C) similares a las mencionadas como óptimas para su crecimiento en los lagos de la zona templada (12-23 °C) y se asemejaron a lo encontrado para los embalses Cúber y Gorg Blau de España (Moyá & Ramón, 1984; Ramón & Moyá, 1984).

Tabla 6. Modelo lineal generalizado con distribución binomial negativa para evaluar los cambios en la abundancia de Dinophyta (2010-2012). * Significancia $p < 0,05$.

Variable	Coefficiente estimado	Error estándar
Constante	4,5*	1,62
agosto 2011 - mayo 2012 (temporada 2)	-1,66*	0,76
Río Las Moras	-0,42	0,23
Río El Chorro	0,32	0,23
Río Singuil	1,02*	0,28
Río Chavarría	-0,66*	0,24
mayo	2,89	2,02
agosto	4,56*	1,69
noviembre	1,36	3,89
DBO₅	0,009*	0,004
CE	0,01	0,01
NH₄⁺	1,07*	0,26
OD	0,10*	0,05
mayo: CE	-0,03	0,02
agosto: CE	-0,04*	0,01
noviembre: CE	-0,01	0,02
mayo: NH₄⁺	31,67	19,62
agosto: NH₄⁺	-11,12	10,26
noviembre: NH₄⁺	-28,27*	2,68
Temporada2: CE	0,02*	0,006
Theta	13,04	3,24
AIC	563,76	
2.log-verosimilitud	-521,76	

Esta Dinophyta puede crecer en aguas con bajas concentraciones de nutrientes ya que logra retenerlos y almacenarlos o migrar en profundidad en su búsqueda (Moyá & Ramón, 1984). En Escaba durante la primavera de 2010, se registraron elevadas densidades del dinoflagelado a valores bajos de amonio lo que podría deberse a su consumo como nutriente. El MLG corroboró la relación negativa entre el dinoflagelado y el amonio, el cual detectó más del 1000% en la disminución de las abundancias a incrementos del NH₄⁺ particularmente en primavera de 2011.

Además, en noviembre de 2011 la ausencia de *C. hirundinella* fue acompañada por un aumento

considerable de algas verdes en un corto período de tiempo, lo que podría atribuirse a una baja densidad del zooplancton, de manera que disminuye el pastoreo sobre estas microalgas favoreciendo su desarrollo (Bustamante Gil *et al.*, 2012).

Con respecto a los valores de densidad de *C. hirundinella*, Moyá & Ramón (1984) registraron un máximo de 47 ind/ml en reservorios de España durante agosto y setiembre de 1978, mientras que el mayor número de individuos obtenido en este trabajo correspondió a 6922 ind/ml en el río Singuil. En otros ambientes eutróficos las abundancias registradas fueron superiores a las nuestras, por ejemplo en Argentina (embalse La Quebrada, Córdoba) *C. hirundinella* llegó a $3,25 \cdot 10^{13}$ ind/ml. También en Sudáfrica, en un reservorio subtropical, la densidad de las especies de *Ceratium* varió de $1,5 \cdot 10^{11}$ a $1,32 \cdot 10^{12}$ ind/ml (Silva *et al.*, 2012).

En el diagrama de Olmstead-Tukey se evidenció además de la dominancia del dinoflagelado que un 14% de las especies registradas en el estudio cuantitativo fueron dominantes, el 8% constantes, en general comunes a todas las muestras, el 19% correspondió a las ocasionales y 59% a las raras. Esto permitió corroborar una situación especial en la segunda temporada, donde se registró una diferenciación estacional ocasionada por estos dos últimos grupos que sobre todo aparecieron en la primavera de 2011 vinculado a la ausencia de *C. hirundinella*. Estos organismos oportunistas que tienen un rápido crecimiento y reproducción, como las algas verdes de tamaño pequeño, se vieron favorecidos por un incremento de la temperatura y la radiación solar (De León & Chalar, 2003).

Por otro lado, el MLG ajustado detectó diferencias en los cambios de abundancias de *C. hirundinella* a nivel espacial y temporal, particularmente entre tributarios y la zona limnética (negativamente con el río Chavarría y positivamente con el río Singuil). Probablemente esto se deba a la posición de los tributarios y a la influencia de los vientos S-SE por lo que se destaca un 177% de incremento en las abundancias en Singuil (al Sur) y un decrecimiento del 48% en Chavarría (al Norte). En otros embalses también se notó una diferenciación espacial entre las densidades de la zona limnética y las “colas” del reservorio (Kawabata & Kagawa, 1988; Bustamante Gil *et al.*, 2012). Esta situación podría atribuirse a que los embalses y sus tributarios están sometidos a una dinámica de crecientes y retracciones estacionarias e interanuales que

provocarían cambios en la disponibilidad de nutrientes y luz entre los lugares de muestreo. Con respecto a los cambios temporales, en los muestreos realizados se observaron mayores abundancias significativas de *C. hirundinella* a incrementos de CE durante la segunda temporada y esta variable mostró una diferencia de un 4% de decrecimiento en las densidades en agosto (aguas bajas) comparadas con marzo (aguas altas).

Durante mucho tiempo, la evaluación de la calidad en lagos y embalses se centró en parámetros fisicoquímicos como los nutrientes, perfiles de oxígeno, entre otros y actualmente se incorporó la biomasa del fitoplancton expresada en términos de clorofila *a*. Esta última serviría como un estimador de eutrofia de uso muy extendido en varios esquemas de clasificación trófica donde si el máximo de concentración en aguas superficiales es superior a 75 $\mu\text{g/l}$ indicaría una categoría hipereutrófica (OCDE, 1982). Esta condición se observó en Escaba, aunque los valores de clorofila *a* fueron muy variables a nivel espacial y temporal, destacándose un valor promedio total de biomasa de 419 $\mu\text{g/l}$. Tanto en la zona limnética como en el río Chavarría el registro medio fue inferior (110-291 $\mu\text{g/l}$) mientras que en los ríos Las Moras, El Chorro y Singuil lo superaron ampliamente (555-719 $\mu\text{g/l}$). Basándonos en la elevada biomasa registrada en este embalse se podría establecer que su potencial ecológico es deficiente o malo. Asimismo, estos datos difieren notoriamente de los mencionados para otros cuerpos de agua artificiales, incluso si se comparan con los de Tucumán. En estos ambientes lénticos, los registros máximos llegaron a 31 $\mu\text{g/l}$ en La Angostura (Tafi del Valle), 34 $\mu\text{g/l}$ en Río Hondo y 63 $\mu\text{g/l}$ en Dr. C. Gelsi (Tracanna *et al.*, 2014a). Una situación semejante a la de Escaba, donde el principal responsable de los altos valores de clorofila *a* fue *C. hirundinella* con registros de 250 $\mu\text{g/l}$, fue observada por Mariñelarena *et al.* (2016) en el embalse Río Tercero (Córdoba). La biomasa se correlacionó significativamente con un gran número de variables bióticas y abióticas, tuvo una relación directa con la temperatura la que es relevante cuando se evalúa la calidad de agua de un reservorio. Este parámetro físico favorece el proceso de eutrofización al producir un incremento en la tasa de reconversión de nutrientes y por lo tanto un aumento de la productividad del lago (Ledesma *et al.*, 2013). La clorofila *a* además se correlacionó con fósforo y nitrógeno totales, similar

a lo citado para algunas represas de Córdoba por Amé *et al.* (2003), Bazán *et al.* (2005) y Ledesma *et al.* (2013). En el caso del nitrato se observó una relación significativa negativa con la concentración de clorofila *a*, lo que podría estar asociado a su consumo cuando existe una proliferación de *Ceratium* de acuerdo a lo citado por Ferral (2013) para el embalse San Roque, Córdoba.

Coincidente con el predominio de *C. hirundinella* en la mayoría de los sitios y meses muestreados, la diversidad baja detectada en el embalse Escaba (salvo zona limnética-fondo, primavera de 2011) indicaría una alteración de la calidad del ambiente acuático que condujo a que este dinoflagelado fuese el principal componente del fitoplancton. El fósforo como limitante con una relación N/P en general mayor a 17 (Tracanna *et al.*, 2014b) sería uno de los causantes del crecimiento del dinoflagelado que puede perdurar en condiciones desfavorables por la producción de quistes. Otros factores que favorecerían su permanencia en el embalse estarían vinculados a condiciones de aguas relativamente calmas, a su capacidad de moverse y mantenerse en la columna de agua y de resistir la holomixis. Esto último fue observado también por varios investigadores en otros reservorios de zonas tropicales (Townsend & Luong-Van, 1998; Townsend, 2001; López *et al.*, 2012). Además, como las células de *Ceratium* son de mayor tamaño que las de otros fitopláncetes, esto contribuiría a que su herbivoría sea menor. Morales (2016) en un estudio realizado en la represa de La Angostura (Cochabamba, Bolivia) comprobó lo expuesto anteriormente donde algas de dimensiones menores eran presas del zooplancton en lugar de *Ceratium furcoides*. El gran aporte cuantitativo de *C. hirundinella* en Escaba influyó en la diversidad de forma negativa y altamente significativa.

Con respecto al índice sapróbico, el embalse Escaba quedó definido como polisapróbico dominado por *C. hirundinella*, mientras que en la primavera de 2011, donde se destacaron las algas verdes las aguas fueron de tipo α -mesosapróbica. En general, los otros reservorios de Tucumán se clasificaron como β a β/α -mesosapróbicos predominando *A. granulata* en el caso del embalse C. Gelsi y las Chlorophyta y Cyanobacteria en el de Río Hondo (Tracanna *et al.*, 2014a). En el embalse La Angostura si bien no se empleó la valoración de un índice de saprobiedad, se definió la calidad del agua como oligo-mesotrófica en términos de OD,

DBO₅ y NH₄⁺ (Seeligmann & Tracanna, 2009).

Los resultados de este estudio demostraron la capacidad del fitoplancton para determinar el estado trófico acuático y la caracterización limnológica del embalse. Como consecuencia de la proliferación de *C. hirundinella* a lo largo del período estudiado, se pudo constatar un significativo deterioro de la calidad de las aguas en base a algunas características organolépticas observadas *in situ*, elevada biomasa, baja diversidad específica y alta saprobicidad. No obstante durante la primavera del 2011, se observó una leve mejoría del estado trófico del embalse debido a la dominancia de las algas verdes. Por último, este trabajo contribuyó a ampliar el área de distribución del dinoflagelado en la provincia de Tucumán.

Una gestión efectiva es necesaria para mejorar la calidad de este recurso acuático, que tenga en cuenta monitoreos multidisciplinarios periódicos a fin de disminuir la eutrofización de este sistema lenítico.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Naturales e IML y a la Fundación Miguel Lillo por sus colaboraciones en los trabajos de campo. Asimismo, este trabajo se realizó en el marco del Proyecto PIUNT 26G/529 subsidiado por la Secretaría de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica (SCAIT) de la UNT.

BIBLIOGRAFÍA

- AKAIKE, H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: PETROV, B. N. & F. CSAKI (eds.), *Proceedings of the Second International Symposium on Information Theory*, pp. 267-281. Akademiai Kiado, Budapest.
- AMÉ, M. V., M. DEL PILAR DÍAZ & D. A. WUNDERLIN. 2003. Occurrence of toxic cyanobacterial blooms in San Roque Reservoir (Córdoba, Argentina): a field and chemometric study. *Environ. Toxicol.* 18: 192-201.
- BAZÁN, R., M. CORRAL, M. PAGOT, A. RODRÍGUEZ, N. RODRÍGUEZ, N. LARROSA, A. COSSAVELLA, S. OLMO, E. BONFANTI & F. BUSSO. 2005. Teledetección y modelado numérico para el análisis de la calidad de agua del embalse Los Molinos. *Ing. Hidráulica en México* 20: 121-135.
- BEAUJEAN, A. A. & G. B. MORGAN. 2016. Tutorial on using regression models with count outcomes using R. *Prac. Assess. Res. Eval.* 21: 1-19.
- BOLTOVSKOY, A. 2005. *Ceratium hirundinella* Schrank: Un dinoflagelado invasor en lagos y embalses. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 40: 9.
- BUSTAMANTE GIL, C., J. J. RAMÍREZ RESTREPO, A. BOLTOVSKOY & A. VALLEJO. 2012. Spatial and temporal change characterization of *Ceratium furcoides* (Dinophyta) in the equatorial reservoir Riogrande II, Colombia. *Acta Limnol. Bras.* 24: 207-219.
- CONZONNO, V. 2009. *Limnología química*. 1ª ed. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, La Plata.
- DE LEÓN, L. & G. CHALAR. 2003. Abundancia y diversidad del fitoplancton en el Embalse de Salto Grande (Argentina - Uruguay). Ciclo estacional y distribución espacial. *Limnetica* 22: 103-113.
- DEL GIORGIO, P. A., A. L. VINOCUR, R. J. LOMBARDO & G. TELL. 1991. Progressive changes in the structure and dynamics of the phytoplankton community along a pollution gradient in a lowland river - a multivariate approach. *Hydrobiologia* 224: 129-154.
- DI RIENZO, J. A., F. CASANOVES, M. G. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA & C. W. ROBLEDO. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>.
- FERNÁNDEZ, D. S., M. E. PUCHULU & M. CZERNICZYNIEC. 2007. Trabajo de campo en el embalse Escaba. En: CICERONE, D. S. & M. DEL V. HIDALGO (eds.), *Los Humedales de la Cuenca del Río Salí*, pp. 227-254. Jorge Baudino Ediciones, Buenos Aires.
- FERRAL, A. 2013. *Análisis espacio-temporal del efecto del sistema de aireación artificial en el Embalse San Roque. Integración de datos de campo y técnicas geoespaciales*. Tesis de Maestría. Facultad de Matemática, Astronomía y Física, UNC.
- HAMM, A. 1969. Die Ermittlung der Gewässergüteklassen bei Fließgewässern nach den Gewässergütesystem und Gewässergütemogramm. *Münch. Beitr. Abwass. Fisch. Flussbiol.* 15: 46-48.
- HUSZAR, V. L. M., L. H. S. SILVA, P. DOMINGOS, M. M. MARINHO & S. MELO. 1998. Phytoplankton species composition is more sensitive than OECD criteria to the trophic status of three Brazilian lakes. *Hydrobiologia* 369/370: 59-71.
- KAWABATA, Z. & H. KAGAWA. 1988. Distribution pattern of the dinoflagellate *Ceratium hirundinella* (O. F. Müller) Bergh in a reservoir. *Hydrobiologia* 169: 319-325.
- LEDESMA, C., M. BONANSEA, C. M. RODRÍGUEZ & A. R. SÁNCHEZ DELGADO. 2013. Determinación de indicadores de eutrofización en el embalse Río Tercero, Córdoba (Argentina). *Rev. Cién. Agron.* 44: 419-425.

S. N. Martínez de Marco *et al.* - Fitoplancton del embalse Escaba

- LOCASCIO DE MITROVICH, C., A. VILLAGRA DE GAMUNDI, B. TRACANNA, C. SEELIGMANN & C. BUTI. 1997. Situación actual de la problemática limnológica de los embalses de la provincia de Tucumán (Argentina). *Lilloa* 39: 81-93.
- LOEZ, C. R. 1995. Determinación de clorofila *a*. En: LOPRETTO, E. C. & G. TELL (eds.), *Ecosistemas de aguas continentales. Metodología para su estudio I*, pp. 263-269. Ediciones Sur, La Plata.
- LÓPEZ, N. L., C. A. RIVERA RONDÓN, Á. ZAPATA, J. JIMÉNEZ, W. VILLAMIL, G. ARENAS, C. RINCÓN & T. SÁNCHEZ. 2012. Factors controlling phytoplankton in tropical high-mountain drinking-water reservoirs. *Limnetica* 31: 305-322.
- MAGURRAN, A. E. 2004. *Measuring biological diversity*. Blackwell Publishing, Oxford.
- MARGALEF, R. 1983. *Limnología*. 1º ed. Omega, Barcelona.
- MARIÑELARENA, A., M. E. MAC DONAGH, J. DONADELLI & M. A. CASCO. 2016. Un caso inusual de eutrofización en el Embalse Río Tercero: el posible rol de dos bioinvasores. *Biol. Acuát.* 31: 10-18.
- MARTÍNEZ DE MARCO, S. N. & B. C. TRACANNA. 2001. Limnología del embalse Dr. C. Gelsi (El Cadillal) Tucumán - Argentina. IV: Cambios espaciales y temporales del fitoplancton. *Lilloa* 40: 223-234.
- MCCULLAGH, P. & J. A. NELDER. 1983. *Generalized linear models*. Chapman and Hall, London.
- MEICHTRY DE ZABURLÍN, N., R. E. VOGLER, V. M. LLANO & I. S. M. MARTENS. 2013. Fitoplancton del embalse Yacyretá (Argentina-Paraguay) a una década de su llenado. *Rev. Mex. Biodiv.* 84: 225-239.
- MORALES, E. A. 2016. Floración de *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans (Dinoflagellata, Dinophyceae) en la represa de La Angostura, Cochabamba, Bolivia. *Acta Nova* 7: 389-398.
- MOYÁ, G. & G. RAMÓN. 1984. Variación espacio-temporal de *Ceratium hirundinella*, en los embalses de Cúber y Gorg Blau (Mallorca). *Limnetica* 1: 285-290.
- NAVARRO, E., E. GARCÍA-BERTHOU & J. ARMENGOL. 2010. La calidad ecológica de los embalses. *I y C* 401: 80-87.
- OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico). 1982. *Eutrophication of Waters. Monitoring, Assessment and Control*. Cooperative Programmers on Monitoring of Inland Waters (Eutrophication Control), Environment Directorate, OCDE Paris, Final Report. France.
- PANTLE, R. & H. BUCK. 1955. Die biologisch Überwachung der Gewässer und die Darstellung der Ergebnisse. *Gas. Wasserfach.* 96: 604-607.
- PANTORRILLA, M. M. & V. A. NÚÑEZ REGUEIRO. 2006. Investigaciones arqueológicas en la zona de Escaba, provincia de Tucumán: asentamientos Condorhuasi y Aguada en las Yungas. *Intersecciones Antro.* 7: 235-245.
- RAMÓN, G. & G. MOYÁ. 1984. Distribución estacional de *Planctonema lauterbornii* (Ulotrichaceae) en dos embalses de aguas mineralizadas (Cúber y Gorg Blau, Mallorca). *Limnetica* 1: 291-296.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2005. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, Disponible en: <http://www.R-project.org>.
- REARTE, J. 1981. Provincia de Tucumán. En: Centro Editor de América, org., *Atlas Físico de la República Argentina I*, pp. 99-105. Buenos Aires.
- REYNOLDS, C. S. 1998. What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status? *Hydrobiologia* 369/370: 11-26.
- RODRÍGUEZ, M. I., M. A. BUSTAMANTE, A. L. RUIBAL, M. A. RUÍZ & F. BUSSO. 2000. *Estudio del fitoplancton en el marco de monitoreo del Embalse San Roque (Cba.)*. IV Congreso Argentino de Limnología. Instituto Nacional del Agua. S. C. de Bariloche. 14 pp.
- ROJO, C. 1998. Differential attributes of phytoplankton across the trophic gradient: a conceptual landscape with gaps. *Hydrobiologia* 369/370: 1-9.
- ROTT, E. 1988. Some aspects of the seasonal distribution of flagellates in mountain lakes. *Hydrobiologia* 161: 159-170.
- SALUSSO, M. M. & L. B. MORAÑA. 2014. Fitoplancton de embalses subtropicales del noroeste argentino. *Gest. Ambient.* 17: 209-222.
- SANTILLÁN DE ANDRÉS, S. E. & T. R. RICCI. 1980. *Geografía de Tucumán (Consideraciones generales)*. Editorial de la Universidad Nacional de Tucumán. Publicación 1299, Tucumán.
- SEELIGMANN, C. T. & B. C. TRACANNA. 1994. Limnología del embalse El Cadillal (Tucumán, Argentina) II. Estudio cualitativo del fitoplancton. *Cryptogamie Algol.* 15: 19-35.
- SEELIGMANN, C. & B. C. TRACANNA. 2009. Dinámica del fitoplancton en un embalse de alta cota del Noroeste Argentino (Tucumán). *Limnetica* 28: 105-124.
- SEELIGMANN, C., B. C. TRACANNA, S. MARTÍNEZ DE MARCO & S. ISASMENDI. 2001. Algas fitoplanctónicas en la evaluación de la calidad de agua de sistemas lóticos en el Noroeste Argentino. *Limnetica* 20: 123-133.
- SEIP, K. L. & C. S. REYNOLDS. 1995. Phytoplankton functional attributes along trophic gradient and season. *Limnol. Oceanogr.* 40: 589-597.
- SILVA, L. C., I. CARNIELLI LEONE, M. J. SANTOS-WISNIEWSKI, A. CARVALHO PERET & O. ROCHA. 2012. Invasion of the dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 at tropical reservoir and its relation to environmental variables. *Biota Neotrop.* 12: 93-100.

- SIROMBRA, M. 2003. *Viaje de campo dique Escaba. Guía de apoyo de la Cátedra de Ecología General*. FCN e IML, UNT. 12 pp.
- SOKAL, R. R. & F. J. ROHLF. 1981. *Biometry the principles and practice of statistics in biological research*. 2nd ed. WH Freeman and Company, San Francisco.
- TOWNSEND, S. A. 2001. Perennial domination of phytoplankton by *Botryococcus* and *Peridinium* in a discontinuously polymictic reservoir (tropical Australia). *Arch. Hydrobiol.* 151: 529-548.
- TOWNSEND, S. A. & J. T. LUONG-VAN. 1998. Phytoplankton biomass and composition in Manton River Reservoir, a mesotrophic impoundment in the Australian wet/dry tropics. *Int. Rev. Hydrobiol.* 83: 113-120.
- TRACANNA, B. C., C. T. SEELIGMANN, V. MIRANDE, L. B. DE PARRA, M. T. DE PLAZA & F. M. MOLINARI. 1999. Cambios espaciales y temporales del fitoplancton en el embalse Río Hondo (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 34: 101-105.
- TRACANNA, B. C., S. MARTÍNEZ DE MARCO, C. SEELIGMANN, S. ISASMENDI & A. ELÍAS. 2000. Distribución vertical del fitoplancton del embalse Río Hondo, Argentina. En: FARÍAS, H. D., M. T. PILÁN, M. J. BORSELLINO, F. J. PECE, A. DEL R. STORNILO & M. T. MATTAR (eds.), *Uso y preservación de los recursos hídricos en los umbrales del siglo XXI. Memorias del XVIII Congreso Nacional del Agua*, Santiago del Estero.
- TRACANNA, B. C., S. N. MARTÍNEZ DE MARCO, M. J. AMOROSO, N. ROMERO, P. CHAILE & A. MANGEAUD. 2006. Physical, chemical and biological variability in the Dr. C. Gelsi reservoir (NW Argentina): A temporal and spatial approach. *Limnetica* 25: 787-808.
- TRACANNA, B. C., C. T. SEELIGMANN, V. MIRANDE, S. N. MARTÍNEZ DE MARCO & S. ISASMENDI. 2014a. Peri-Pampean Sierras aquatic systems in Tucumán Province. In: TELL, G., I. IZAGUIRRE & I. O'FARRELL (eds.), *Freshwater phytoplankton of Argentina. Phytoplankton diversity and ecology in different aquatic systems*. *Advanc. Limnol.* 65, pp. 199-213. Editorial E. Schweizerbart Science Publishers, Stuttgart.
- TRACANNA, B. C., S. N. MARTÍNEZ DE MARCO, M. DE LOS Á. TABOADA, V. MIRANDE, M. DE L. GULTEMIRIAN & S. C. ISASMENDI. 2014b. Assessment of the physicochemical variables of a subtropical reservoir in the northwest of Argentina. *Acta Limnol. Bras.* 26: 367-380.
- TUNDISI, J. G. 2008. Recursos hídricos no futuro: problemas e soluções. *Est. Av.* 22: 7-16.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommung der Quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitt. Int. Verein. Limnol.* 9: 1-38.
- WESTERN, D. 2001. Human-modified ecosystems and future evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98: 5458-5465.

Recibido el 8 de mayo de 2018, aceptado el 4 de octubre de 2018. Editora: Luz Allende.

CYANOBACTERIAS EN UN EMBALSE SUBTROPICAL DE LA PROVINCIA DE SALTA (ARGENTINA)

ANDREA VIDAURRE, FLORENCIA S. ALVAREZ DALINGER, LILIANA B. MORAÑA y
MARÍA M. SALUSSO*

Summary: Cyanobacteria in a subtropical reservoir of the province of Salta (Argentina). The Limón reservoir has become the main source of drinking water for 80% of the population of the north of the province of Salta (22° 05' 47.90" S - 63° 44' 19.48" W). At present, there is no systematized information on phytoplankton algae present in this dam. We analyzed 19 samples from the period 2013-2015, in both phases of the hydrological cycle, according to standardized techniques, in order to evaluate the representativeness of potentially toxic Cyanobacteria in Limón and their relative importance in phytoplankton. There was a predominance of Cyanobacteria, with a significant interannual increase, these being more abundant during dry season, with an average of 110,160 cells/ml in 2015, with a predominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Raphidiopsis mediterranea* (75,027 and 170,000 cells/ml respectively). Among the species with toxic potential, *Anabaenopsis elenkinii*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanocapsa annulata*, *Coelomoron tropicale*, *Chroococcus dispersus*, *C. raciborskii*, *Microcystis flos-aquae*, *Planktolyngbya limnetica*, *Pseudanabaena limnetica*, *R. mediterranea* and *R. curvata* were notable for their densities. The representativeness of this group within the phytoplankton was greater than 70%. It is concluded that the body of water is an environment of risk and must be monitored permanently for its use for water for human consumption.

Key words: Limón, environmental risk, phytoplankton, algae, potabilization water.

Resumen: El embalse Limón se ha convertido en la principal fuente de agua potable para el 80% de la población del norte de la provincia de Salta (22° 05'47,90"S-63° 44' 19,48" W). Al presente, no existe información sistematizada de las algas del fitoplancton presentes en esta presa. Se analizaron 19 muestras del período 2013-2015 en ambas fases del ciclo hidrológico, según técnicas estandarizadas, con el objeto de evaluar la representatividad de cianobacterias potencialmente tóxicas en Limón y su importancia relativa en el fitoplancton. Existió un predominio de cianobacterias, con un incremento interanual significativo, siendo éstas más abundantes en los estiajes, con un promedio de 110.160 células en 2015, con predominio de *Cylindrospermopsis raciborskii* y *Raphidiopsis mediterranea* (75.027 y 170.000 células/ml). Entre las especies con potencial toxicogénico se destacaron por sus densidades *Anabaenopsis elenkinii*, *Aphanizomenon gracile*, *Aphanocapsa annulata*, *Coelomoron tropicale*, *Chroococcus dispersus*, *C. raciborskii*, *Microcystis flos-aquae*, *Planktolyngbya limnetica*, *Pseudanabaena limnetica*, *R. mediterranea* y *R. curvata*. La representatividad del grupo dentro del fitoplancton fue superior al 70%. Se concluye que el cuerpo de agua es un ambiente de riesgo y debe ser monitoreado permanentemente para su empleo para agua de consumo humano.

Palabras clave: Limón, riesgo ambiental, fitoplancton, algas, agua potabilización.

INTRODUCCIÓN

La eutrofización de los cuerpos de agua por las actividades agrícolas e industriales es en parte responsable de la proliferación de las algas, acentuada por el cambio climático. Las floraciones

de cianobacterias son una problemática a nivel mundial, que afecta especialmente a ambientes lénticos y dulceacuícolas (Chorus & Bartram, 1999). El incremento de la temperatura global y en la distribución de las precipitaciones favorecen su desarrollo (Markensten *et al.*, 2010). Dado que estas

1 Facultad Ciencias Naturales. Universidad Nacional Salta. Avenida Bolivia 5150, 4400, Salta.
*mmsalusso@gmail.com

algas también proliferan en ambientes oligotróficos con altas temperaturas, este factor favorecería más la producción de biomasa que el enriquecimiento con nutrientes (Paerl & Paul, 2012). A nivel mundial las floraciones de cianobacterias no sólo son cada vez más frecuentes, sino también más intensas, y se espera que lleguen a abarcar áreas que a la fecha no presentan esta problemática (Reichwaldt & Ghadouani, 2012; Cheung *et al.*, 2013).

Las floraciones de algas son responsables de una gran cantidad de efectos negativos, entre los que podemos destacar los cambios en la estructura fitoplanctónica, disminución de la biodiversidad y por supuesto, afectación de la calidad del agua y sus potenciales usos (Thomas & Litchman, 2015). Además, en muchas ocasiones estas floraciones contienen cepas capaces de liberar al medio cianotoxinas.

La información acerca de la presencia de cianobacterias y cianotoxinas en los ríos y embalses de nuestro país sigue siendo escasa, y por lo general, referida a eventos únicos (Giannuzzi *et al.*, 2012). Las regiones identificadas con mayor presencia de cianobacterias corresponden al centro y noreste del país, siendo los embalses los cuerpos de agua que presentan los mayores registros de toxicidad (Aguilera *et al.*, 2017). Los géneros más frecuentes en agua dulce en el norte del país son *Microcystis*, *Dolichospermum* y *Cylindrospermopsis* (Otaño *et al.*, 2012).

En América del Sur, Brasil y Uruguay han tomado como pautas para el monitoreo de las cianobacterias y cianotoxinas los valores propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para aguas de consumo y recreativas (Chorus & Bartram, 1999). A diferencia de estos países, en la actualidad, la legislación argentina no contempla el control de toxinas presentes en el agua potable. Muy pocas plantas potabilizadoras realizan el recuento de algas y la identificación de las toxinas que estas generan, aunque suelen centrarse únicamente en microcistinas (Otaño & Bogarin, 2014). El aumento de las floraciones registrado en las últimas décadas genera la necesidad de incorporar el control de algas y de cianotoxinas a los monitoreos de calidad de agua para consumo.

La situación de los embalses merece especial atención, ya que en muchos casos sus aguas son utilizadas para abastecimiento de poblaciones y recreación, como en el caso del embalse Limón en la provincia de Salta. Al presente no se dispone de

información sistematizada acerca de la condición de dicho embalse. El objetivo del trabajo fue evaluar la representatividad de cianobacterias potencialmente tóxicas en la toma de agua para potabilización de la presa Limón y su importancia relativa en el total del fitoplancton durante ambas fases de los ciclos hidrológicos en el período 2013-2015.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Al norte de la provincia de Salta, se encuentra el departamento Gral. San Martín, cuyas principales actividades económicas se relacionan con la actividad maderera, agrícola y de extracción gasífera y petrolera. Según datos del último censo el departamento tiene una población de 156.910 habitantes, siendo entonces el tercero en importancia de la provincia. Del total de hogares, el 32.6 % carecían hasta el año 2010 de provisión de agua potable (INDEC, 2010).

El 80% del agua para consumo de la población se extrae principalmente de las presas Itiyuro y Limón, y el resto se extrae de pozos subterráneos y del río Tartagal. Originalmente el dique Itiyuro era la única fuente de abastecimiento, pero debido a su colmatación por sedimentos su volumen se redujo de 70 Hm³ a solo 2 Hm³ (Paoli *et al.*, 2011). La población de la región aumentó en un 45% en un período de 20 años (INDEC, 2010). El aumento en la demanda del recurso determinó que a partir del 2009 se complementara el abastecimiento con agua proveniente del Limón, siendo en la actualidad la principal fuente de agua potable para 100.000 personas. Su capacidad es de 0,88 Hm³ con una profundidad máxima de 5 m a una cota de 586,7 msnm, que en períodos de estiaje puede disminuir a menos de 4 m. La región experimenta una precipitación media anual de 914 mm, concentradas de octubre a mayo y las temperaturas promedian 24,4°C, variando desde una mínima de 8,8 °C a una máxima de 33,1°C.

El embalse presenta estratificación en el estiaje, interrumpida por el ingreso de agua con las precipitaciones a comienzos de octubre o noviembre de cada año. En el período comprendido entre 2013 y 2015 se colectaron un total de 19 muestras en la toma del embalse Limón (22° 05'47,90" S-63° 44' 19,48" W), en ambos períodos del ciclo hidrológico: tres en estiaje y tres en fase de crecidas (excepto

en 2013 en el que se tomaron cuatro muestras en estiaje). Las muestras se colectaron con muestreador Van Dorn entre 0.5 y 1 m de profundidad. Para el análisis cualitativo del fitoplancton, fueron filtradas por red de 30 micras de tamaño de poro y fijadas con formol a concentración final del 4%. Las muestras para el análisis cuantitativo fueron fijadas con lugol acidificado y conservadas a 4° C hasta su análisis. Los recuentos del fitoplancton se efectuaron previa sedimentación por 24 hs en cámaras combinadas empleando microscopio invertido marca Zeiss L, utilizando la técnica de Utermöhl (1958). Se contaron un total de campos que permitieron en cada caso, obtener al menos 100 individuos de la especie más frecuente. Los resultados se expresaron en células/ml. La determinación del número de células de los filamentos se realizó dividiendo el largo total del filamento por el largo promedio de la célula (n=20). No se consideraron en el conteo los materiales vacíos sin contenido celular. La identificación de especies se realizó por captura de imágenes mediante cámara digital Axio Cam1Cc3, y empleando trabajos especializados: Patrick & Reimer (1966), Komárek & Anagnostidis (1999, 2005), Komárek & Komárková-Legnerová (2007); Komárek *et al.*, 2014, Krammer & Lange-Bertalot (1986, 1991), entre otros.

Los resultados fueron analizados utilizando el programa Info-Stat (Di Rienzo, 2013). En el caso que los datos no presentaron distribución normal para la comparación entre años y períodos muestreados, se utilizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (H). El test reemplaza al ANOVA, cuando los supuestos de normalidad de la distribución y/o homogeneidad de las varianzas (Test de Bartlett) no se cumplen. Para comparación entre ambas fases del ciclo hidrológico se utilizó el test de Mann-Whitney. Se aplicó el índice de diversidad de Shannon-Weaver, $H' = -\sum p_i \log p_i$, $p_i = n_i / N$; número de organismos de la especie i / número total de organismos. n_i = número de organismos de la especie i y N = número total de organismos, expresados en bits ind⁻¹. El Índice de Pielou (J) se usó para determinar la homogeneidad en la distribución de abundancias entre las poblaciones, siendo la ecuación $J' = H'/H_{max}$ donde H_{max} es la máxima diversidad que ocurre cuando las abundancias de las especies es la misma. La equitatividad asume valores entre 0 y 1, y considera bajos valores menores a 0,5 y altos mayores a 0,7 (Magurran, 1988).

RESULTADOS

La densidad promedio del fitoplancton fue de $57,06 \times 10^3$ células/ml, y no presentó diferencias significativas entre los años muestreados, aunque tendió a elevarse en forma sostenida alcanzando valores máximos en 2015 (Tabla 1).

Si bien no existieron diferencias significativas entre fases del ciclo hidrológico, la abundancia del fitoplancton fue más elevada en los estiajes de los respectivos años (Fig.1), con el máximo valor de $1,57 \times 10^5$ células/ml en 2015, cuando las precipitaciones promedio (20,6 mm) difirieron significativamente del período de lluvias (141,8 mm). Los bajos niveles y la estabilidad de la columna de agua del embalse favorecieron la proliferación y acumulación del fitoplancton sobre todo en esta región caracterizada por temperaturas medias elevadas (22,08°C).

La cantidad total de especies del fitoplancton identificadas en el período de muestreo fue 92 spp. y en promedio 16 spp., con los valores extremos de 33 spp. en noviembre de 2015 a inicios del período de precipitaciones, y un mínimo de 8 en noviembre de 2013 en coincidencia con el máximo estiaje. La diversidad promedio fue de 2,33 bits ind⁻¹, variando en el rango de 3,57 a 1,34 bits ind⁻¹. En el último caso en respuesta al ingreso de agua después de una sequía prolongada en 2013. El rango de variación de J fue de 0.27 en fase de aguas altas en 2015 y de 0,86 en estiaje de 2013, con un valor medio de 0,60. De los atributos ecológicos del fitoplancton, sólo la cantidad de especies se diferenció entre fases del ciclo hidrológico, con un promedio de 20 especies en crecidas y 14 en estiaje (H= 6,90; p= 0,05).

Cianobacterias fue el grupo taxonómico mejor representado, con porcentajes entre 73 y 96%, seguidas por Clorófitas y Bacillariófitas (Tabla 2), en ambos casos con porcentajes promedio del

Tabla 1. Densidades promedio del fitoplancton en los distintos años muestreados.

Año	N	Densidad (cels/ml)	CV	Valor mínimo	Valor máximo
2013	7	$2,93 \times 10^4$	115	$3,91 \times 10^2$	$9,80 \times 10^4$
2014	6	$5,82 \times 10^4$	110	$1,97 \times 10^3$	$15,70 \times 10^4$
2015	6	$8,92 \times 10^4$	62	$4,60 \times 10^4$	$18,58 \times 10^4$

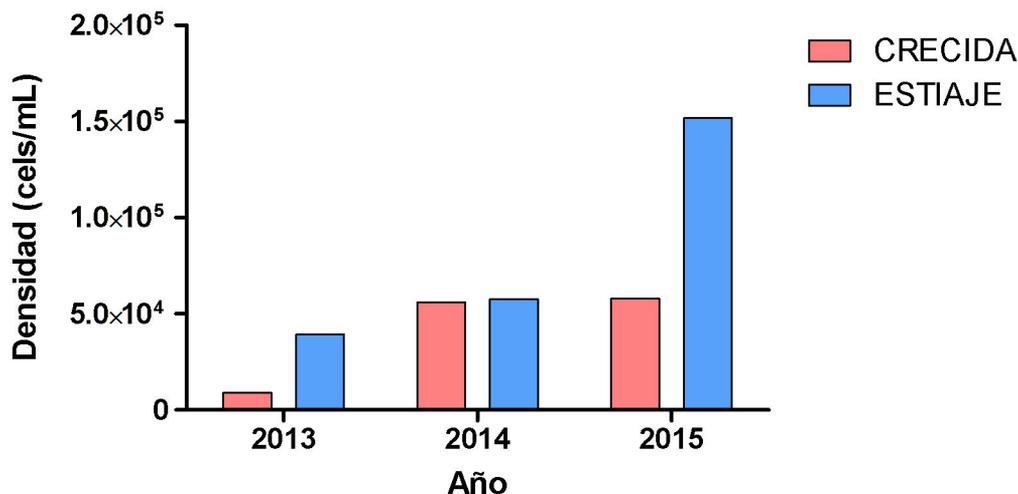


Fig. 1. Densidades promedio de fitoplancton en crecidas y estiajes en los distintos años de muestreo.

10 % y 4 %, respectivamente. Dinófitas (0,17 %), Cryptófitas (0,04%) y Euglenófitas (0,03%), y otros grupos menores (Xantófitas, Crisófitas y Charófitas) no superaron en conjunto el 0,04%.

Las Cianobacterias presentaron una media de $50,46 \times 10^3$ células/ml a lo largo de los tres años muestreados, alcanzando su pico máximo en primavera del 2015 con $18,17 \times 10^4$ células/ml y un mínimo de 148 células/ml en octubre de 2013. Las Clorófitas presentaron un promedio de $4,48 \times 10^3$ células/ml, con un máximo de $16,46 \times 10^3$ células/ml y un mínimo de 76 células/ml, ambos en 2014. En el caso de las diatomeas, el promedio en todo el período de muestreo fue de $1,39 \times 10^3$ células/ml. La variación interanual de las Cianobacterias mostró un incremento de densidad igual al 134% entre el primer y segundo año, y el subsecuente aumento del 60% en 2015.

Los distintos grupos del fitoplancton no presentaron diferencias significativas en las abundancias entre fases del ciclo hidrológico (Fig. 2), aunque tendieron

a presentar densidades más elevadas durante los estiajes de los respectivos años.

Las Cianobacterias en los estiajes fueron más abundantes con un promedio de $59,82 \times 10^3$ células/ml, aunque también el grupo presentó valores elevados en aguas altas ($36,13 \times 10^3$ células/ml). Diversas especies presentaron floraciones, en especial durante los estiajes, destacándose *Planktothrix agardhii* con 10×10^4 y 51×10^3 células/ml en mayo y julio de 2014. *Raphidiopsis mediterranea* con 17×10^4 células/ml y *Cylindrospermopsis raciborskii* con 75×10^3 células/ml en setiembre y noviembre de 2015, respectivamente. A lo largo del muestreo también *Aphanizomenon* spp. presentó varios picos de floraciones, con un máximo de 33×10^3 células/ml en otoño de 2014.

Las Clorófitas en aguas bajas en los dos primeros años secundaron a las cianobacterias (Fig. 2), y luego fueron reemplazadas por otros miembros del fitoplancton.

Tabla 2. Distribución promedio de las densidades según los grupos de algas en los distintos años muestreados.

Año	Bacill.	Clorof.	Cianobac.	Euglenof.	Dinofitas	Cryptof.	Otros
2013	$21,10 \times 10^2$	$55,00 \times 10^2$	$21,43 \times 10^3$	10	45	$1,76 \times 10^2$	4
2014	$11,00 \times 10^2$	$56,80 \times 10^2$	$50,17 \times 10^3$	10	73	$2,29 \times 10^2$	45
2015	$7,61 \times 10^2$	$20,89 \times 10^2$	$84,62 \times 10^3$	32	$1,95 \times 10^2$	$7,40 \times 10^2$	15

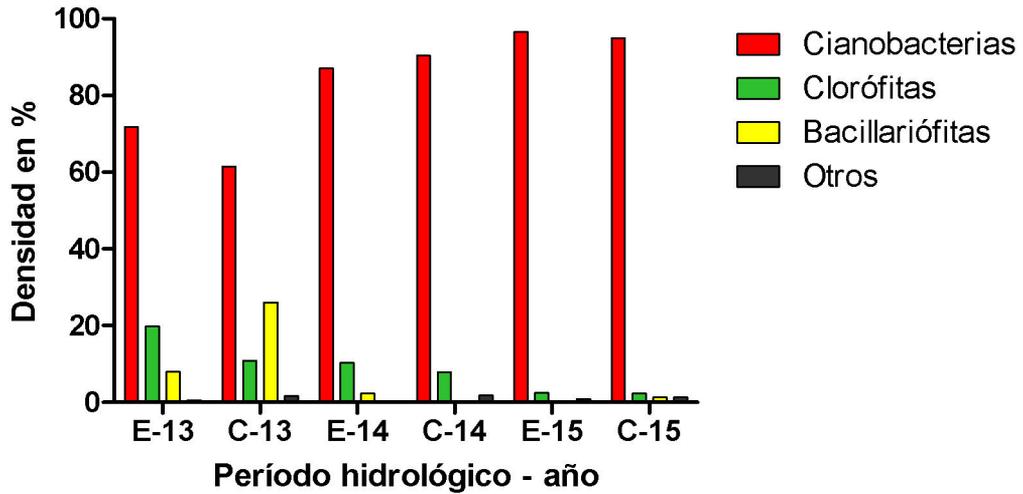


Fig. 2. Abundancias relativas de los principales grupos del fitoplancton en crecidas (C) (n=9) y estiajes (E) (n=10) en los tres años muestreados.

El número total de especies de cianobacterias identificadas (24 spp.), en su mayor parte pertenecieron al Orden Synechococcales (16 spp.), seguido de Oscillatoriales (9 spp.), Chroococcales (8 spp.) y Nostocales (7 spp.).

Entre las especies con potencialidad toxicogénica se destacaron por sus abundancias *Anabaenopsis elenkinii*, *Aph. gracile*, *Aphanocapsa annulata*, *Coelomoron tropicale*, *Chroococcus dispersus*, *C. raciborskii*, *Microcystis flos-aquae*, *Planktolyngbya limnetica*, *Pseudanabaena limnetica* y *R. mediterranea* + *R. curvata*.

DISCUSIÓN

Las características del área de estudio con altas temperaturas, régimen hídrico con alternancia bien marcada entre períodos secos prolongados y períodos de precipitaciones y la estratificación del cuerpo de agua, son altamente favorables para el establecimiento de altas densidades de cianobacterias y la formación de floraciones (Dantas *et al.*, 2011, O' Neill *et al.*, 2012). Se ha documentado que la reducción drástica de nutrientes provenientes de escorrentía puede causar la disminución de floraciones en los embalses (Tromas *et al.*, 2016). En Limón en 2013 antes de las precipitaciones, se llegó a un valor crítico de cianobacterias (148 células/ml en octubre de 2013). A partir de allí, la normalización de las precipitaciones permitió la duplicación de la

biomasa de cianobacterias entre el primer y segundo año, y un subsecuente incremento del 60% en 2015. El año 2013 se caracterizó por ser muy seco con un total acumulado de 250,2 mm, en comparación con los registros de precipitaciones posteriores del 2014 (993,4 mm) y 2015 (882,1 mm) que presentaron menores diferencias con el valor histórico promedio (914,0 mm). La distribución de las precipitaciones fue irregular en el período muestreado, y no guardó correlación con la abundancia del fitoplancton y de cianobacterias. Después de un año muy seco, se produjo el primer valor elevado en marzo de 2014 en concomitancia con la acumulación de pluviosidad desde diciembre de 2014, en tanto que el valor máximo de densidad del fitoplancton del muestreo se dio en setiembre de 2015, en el estiaje tardío, cuando sólo se registró un acumulado de 35,8 mm. Esto podría ser evidencia de que además de los eventos de largo término como el cambio climático global, son los eventos puntuales de sequías y crecidas los mayores determinantes de la ocurrencia de floraciones en determinados años (Paerl & Paul, 2012).

Estudios previos realizados en embalses tropicales muestran similitudes con los resultados del presente trabajo, con representación preponderante de *Aph. gracile*, *Anabaena* spp., *C. raciborskii*, *M. flos-aquae*, *P. agardhii*, *Pseudanabaena* spp., *R. mediterranea* y *Dolichospermum* spp. (Harke *et al.*, 2016). Estos géneros han sido frecuentemente observados en Argentina, como así también, en reservorios del

centro y sur del Brasil (Echenique *et al.*, 2006), a pesar de las diferencias morfohidrológicas existentes entre los reservorios analizados (Sant'Anna *et al.*, 2007; Moschini *et al.*, 2009). Estas similitudes en los componentes de las comunidades de cianobacterias en función de las condiciones climáticas, indicarían una diseminación geográfica de las floraciones a nivel regional (Bittencourt-Oliveira *et al.*, 2014), en especial de especies invasoras que han incrementado su rango actual de dispersión como *Cylindrospermopsis* (Cires & Ballot, 2016).

Cylindrospermopsis raciborskii merece especial atención porque se presenta en codominancia con otras especies de *Aphanizomenon*, *Mersimopedia* y Oscillatoriales (Carlotto Lopes *et al.*, 2015) y representa un gran riesgo para aguas de consumo porque no forma floraciones superficiales y su máxima densidad ocurre a 2-3 metros debajo de la superficie del agua (Saker & Griffiths, 2001).

Si bien no se determinaron cianotoxinas, varias especies abundantes en el embalse podrían producirlas, como cilindrospermopsinas por *C. raciborskii* y *R. mediterranea*, saxitoxinas y anatoxinas por *Aph. gracile* (Sant'Anna *et al.*, 2008, Niamien-Ebrotte *et al.*, 2015), lo que implica que el cuerpo de agua representa un ambiente de riesgo.

Debido a que no existe una normativa ambiental vigente, para el análisis de los datos obtenidos en este estudio, adoptamos los valores guías para sistemas acuáticos destinados a la potabilización propuestos por Chorus & Bartram (1999). Estos establecen un nivel guía de vigilancia (2×10^2 células/ml y $Cl a = 0,1 \mu g L^{-1}$), y dos niveles guías de alerta: N° 1 (2×10^2 células/ml y $Cl a = 1 \mu g L^{-1}$) y de alerta N° 2 (10×10^4 células/ml y $Cl a = 50 \mu g L^{-1}$). En el período de estudio se observó que, del total de muestras recolectadas, el 79 % de las mismas superaron el nivel de alerta N° 1, el 15 % superó el nivel N° 2, y sólo una muestra estuvo por debajo del nivel de vigilancia. Se infiere que deberán ajustarse las condiciones actuales de uso del agua del reservorio a este nivel.

CONCLUSIÓN

El embalse Limón es al presente el ambiente acuático destinado a captación del agua para potabilización, de mayor riesgo de la provincia de Salta. Por las condiciones climáticas altamente favorables de la región, se facilita el desarrollo de floraciones de cianobacterias que no muestran

diferencias entre períodos del ciclo hidrológico, por ende, se requiere de un continuo monitoreo del sistema para procurar en tiempo real las medidas de corrección adecuadas.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUILERA, A., S. HAAKONSSON, M. V. MARTÍN, G.L. SALERNO & R. O. ECHENIQUE. 2017. Bloom-forming cyanobacteria and cyanotoxins in Argentina: A growing health and environmental concern. *Limnologia* 69: 103-114.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C., V. PICCIN-SANTOS, A. N. MOURA, N. K. C. ARAGAO-TAVARES & M. K. CORDEIRO-ARAUJO. 2014. Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in public drinking supply reservoirs of Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc.* 86: 297-310.
- CARLOTTO LOPES, I.K., M.U. GONCALEVES BARROS, C.J. PESTANA & J. CAPELO NETO. 2015. Prevalence of paralytic shellfish poison-producing *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii* in Brazilian semi-arid reservoir. *Acta Limnol. Brasiliensia* 27: 238-246.
- CHEUNG, M. Y., S. LIANG & J. LEE. 2013. Toxin-producing cyanobacteria in freshwater: a review of the problems, impact on drinking water safety, and efforts for protecting public health. *J. Microbiol.* 51: 1-10.
- CIRES, S. & A. BALLOT. 2016. A review of the phylogenetic, ecology and toxin production of bloom-forming *Aphanizomenon* spp. And related species within the Nostocales (Cyanobacteria). *Harmful Algae* 54: 21-43.
- CHORUS, I. & J. BARTRAM. 1999. *Toxic Cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. E & FN Spon, London.
- DANTAS, E. W., A. N. MOURA & M. C. BITTENCOURT-OLIVEIRA. 2011. Cyanobacterial blooms in stratified and destratified eutrophic reservoirs in semi-arid region of Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc.* 83: 1327-1338.
- DI RIENZO, J. A., F. CASANOVES, M. G. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA & C.W. ROBLEDO. 2013. Info Stat. [Online] Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>. (Acceso: August 12, 2013).
- ECHENIQUE, R., L. GIANNUZZI & L. FERRARI, L. 2006. Drinking water: problems related to water supply in Bahía Blanca, Argentina. *Acta Toxicol. Argent.* 14: 23-30.
- GIANNUZZI, L., G. CARVAJAL, M. G. CORRADINI, C. ARAUJO ANDRADE, R. ECHENIQUE & D. ANDRINOLO. 2012. Occurrence of toxic cyanobacterial blooms in Rio de la Plata estuary, Argentina: field study and data analysis. *J. Toxicol.* [http:// dx.doi.org/10.1155/2012/373618](http://dx.doi.org/10.1155/2012/373618).

A. Vidaurre *et al.* - Cianobacterias en un embalse subtropical de Salta

- HARKE, M. J., M. M. STEFFEN, C. J. GOBLER, T. G. OTTEN, S. W. WILHELM, S. A. WOOD & H. W. PAERL. 2016. A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful Algae* 54: 4-20.
- INDEC. 2010. *Publicación del Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas. Censo del Bicentenario. Resultados definitivos. Serie B N° 2*, Argentina.
- KOMÁREK, J. & K. ANAGNOSTIDIS. 1999. Cyanoprokaryota 1. Teil Chroococcales. En: Ettl, H., G. GÄRTNER, H. HEYNIG & D. MOLLENHAVER (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, 19/1.
- KOMÁREK, J. & K. ANAGNOSTIDIS. 2005. Cyanoprokaryota. 2. Oscillatoriales. En: BÜDEL, B., L. KRIENITZ, G. GÄRTNER & M. SCHAGERL (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, 19/2.
- KOMÁREK, J. & J. KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ. 2007. Several rare freshwater planktic Cyanobacteria (Cyanoprokaryotes) from reservoirs in South America. *Hoehnea* 34: 49 - 58.
- KOMÁREK, J., J. KASTOVSKY, J. MARES & J. R. JOHANSEN. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia* 86: 295-335.
- KOMÁRKOVÁ, A. 2004. Planktic Cyanobacteria from São Paulo State, Brazil: Chroococcales. *Braz. J. Bot.* 27:213-227.
- KRAMMER, K. & H. LANGE-BERTALOT. 1986. Bacillariophyceae 1. Teil: Naviculaceae. En: Ettl, H., J. GERLOFF, H. HEYNIG & D. MOLLENHAUER (eds.), *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2*, G. Fischer, Jena.
- KRAMMER, K. & H. LANGE-BERTALOT. 1991. Bacillariophyceae 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. En: Ettl, H., J. GERLOFF, H. HEYNIG & D. MOLLENHAUER (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2/3*, G. Fischer, Jena.
- MAGURRAN, A. E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. New Jersey. Princeton University Press.
- MARKENSTEN, H., MOORE K. & I. PERSSON. 2010. Simulated lake phytoplankton composition shifts toward cyanobacteria dominance in a future warmer climate. *Ecol. Appl.* 20: 752-767.
- MOSCHINI-CARLOS, V., S. BORTOLI, E. PINTO, P. Y. NISHIMURA, L. G. FREITAS, M. L. POMPÊO & F. DÖRR. 2009. Cyanobacteria and cyanotoxin in the Billings reservoir (São Paulo, SP, Brazil). *Limnetica* 28: 273-282.
- NIAMIEN-EBROTTIE, J. E., S. BHATTACHARYYA, P. R. DEEP & B. NAYAK. 2015. Cyanobacteria and cyanotoxins in the World: Review. *Int. J. Appl. Res.* 1: 563-569.
- O'NEIL, J. M., T. W. DAVIS, M. A. BURFORD & C. J. GOBLER. 2012. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 14: 313-334.
- OTAÑO, S., G. SALERNO, M. RUIZ, A. AGUILERA & R. ECHENIQUE. 2012. Argentina: cyanobacteria and cyanotoxins: identification, toxicology, monitoring and risk assessment. En: CHORUS, I. (ed.), *Current Approaches to Cyanotoxin Risk Assessment, Risk Management and Regulations in Different Countries*. Umweltbundesamt, Berlin.
- OTAÑO, S., & C. BOGARÍN. 2014. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria, Nostocales) productora de microcistinas en Corrientes, Argentina. *Acta Toxicol. Argent.* 22: 145-148.
- PAERL, H. W. & V. J. PAUL. 2012. Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water Res.* 46: 1349-1363.
- PAOLI, H., H. ELENA, J. MOSCIARO, F. LEDESMA & Y. NOÉ. 2011. *Caracterización de las cuencas hídricas de las provincias de Salta y Jujuy*. INTA Salta.
- PATRICK, R. & C. W. REIMER. 1966. The diatoms of the United States (exclusive of Alaska and Hawaii). *Acad. Nat. Sci. Philadelphia Monogr.* 13.
- REICHWALDT, E. S. & A. GHADOUANI. 2012. Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: between simplistic scenarios and complex dynamics. *Water Res.* 46: 1372-1393.
- SANT'ANNA, C., S. M. SILVA, M. C. CARVALHO, M. C. P. GELMEGO & M. T. P. AZEVEDO. 2007. Planktic cyanobacteria from upper Tiete basin reservoir, SP, Brasil. *Rev. Bot.* 30: 1-17.
- SANT'ANNA, C.L., M.T.P., AZEVEDO, W.R., WERNER, C.R., DOGO, F.R., RIOS & L.R. CARVALHO. 2008. Review of toxic species of cyanobacteria in Brazil. *Algalological Studies*: 249-263.
- SAKER, M.L. & D.G. GRIFFITHS. 2000. The effect of temperature on growth and cylindrospermopsin content of seven isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from water bodies in northern Australia. *Phycologia* 39: 349-354.
- THOMAS, M. & E. LITCHMAN. 2015. Effects of temperature and nitrogen availability on the growth of invasive and native cyanobacteria. *Hidrobiologia*: 763: 357-369.
- TROMAS, N., N. FORTIN, L. BEDRANI, Y. TERRAT, P. CARDOSO, D. BIRD, Ch. W. GREER & B. J. SHAPIRO. 2016. Characterizing and predicting cyanobacterial blooms in an 8-year amplicon sequencing time-course. *Bio. Rev.* 1-43. <http://dx.doi.org/10.1101/058289>.
- UTERMÖHL, H. 1958. On the perfecting of quantitative phytoplankton method. *Inter. Assoc. of Theor. and Appl. Limn. Proc.* 9: 1-38.

Recibido el 30 de mayo de 2018, aceptado el 12 de octubre de 2018. Editora: Luz Allende.

DINOFLAGELADOS PRODUCTORES DE YESSOTOXINAS EN EL MAR ARGENTINO

ELENA FABRO^{1,2*}, BERND KROCK³ y GASTÓN O. ALMANDOZ^{1,2}

Summary: Dinoflagellates producers of yessotoxins in the Argentine Sea. Yessotoxins (YTXs) consist of a recently described group of phycotoxins associated with shellfish toxicity and with cardiotoxicity in laboratory rodents. Until now there are only three dinoflagellate species considered as YTXs producers: *Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera* and *Lingulodinium polyedra*. In this study the presence of YTX and its potential producers in the Argentine Sea was analyzed by four oceanographic expeditions carried out between 38 and 55°S and during different seasons. Toxin detection was performed by application of liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Morphological analysis included optical and scanning electron microscopy. Two YTXs potential producers were found: *Protoceratium reticulatum* and *Gonyaulax spinifera*, showing highest concentrations of 660 and 140 cell L⁻¹ respectively, during autumn and spring. YTX was also detected during autumn and spring in samples from San Jorge Gulf and slope waters and was associated with the presence of *P. reticulatum*, showing toxin cell quotas of 2.2 and 12.5 pg YTX cell⁻¹. The data obtained suggest that *P. reticulatum* is the main YTXs producer in the Argentine Sea, while *G. spinifera* represents a potential producer in the region which did not show a clear association with YTX detection.

Key words: *Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera*, yessotoxins, Argentine Sea.

Resumen: Las yessotoxinas (YTXs) son un grupo de ficotoxinas descrito recientemente, asociado a toxicidad en moluscos y a cardiotoxicidad en ratones de laboratorio. Hasta el momento se conocen tres especies de dinoflagelados productoras de YTXs a nivel mundial: *Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera* y *Lingulodinium polyedra*. En este estudio se analizó la presencia de YTXs y de sus potenciales productores en cuatro campañas oceanográficas realizadas en diferentes estaciones del año entre los 38 y 55°S. La detección de toxinas se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada con espectrometría de masas en tándem. Los análisis morfológicos incluyeron observaciones mediante microscopía óptica y electrónica de barrido. Se encontraron dos potenciales productores de YTXs, *Protoceratium reticulatum* y *Gonyaulax spinifera*, presentando densidades máximas de 660 y 140 cél. L⁻¹ respectivamente durante las campañas de otoño y primavera, en las cuales se detectó YTX en muestras del Golfo San Jorge y del talud. Los datos obtenidos sugieren que la especie *P. reticulatum* es la principal productora de YTXs en el Mar Argentino presentando cuotas celulares entre 2,2 y 12,5 pg YTX cél.⁻¹, mientras que *G. spinifera* representa un productor potencial en la región que no ha mostrado una asociación clara con la detección de YTX.

Palabras clave: *Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera*, yessotoxinas, Mar Argentino.

INTRODUCCIÓN

Las microalgas planctónicas constituyen un componente biótico esencial presente en todos los mares y océanos del mundo, representan el primer

eslabón en la cadena alimentaria y son responsables de la mayor parte de la productividad primaria de los ecosistemas marinos (Graham & Wilcox, 2000). Los períodos de rápido crecimiento y acumulación de fitoplancton, denominados floraciones, resultan

¹ División Ficología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Paseo del Bosque s/n (B1900FWA), La Plata, Argentina.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Godoy Cruz 2290 (C1425FQB) CABA, Buenos Aires, Argentina.

³ Alfred Wegener Institut-Helmholtz Zentrum für Polar- und Meeresforschung, Chemische Ökologie, Am Handelshafen 12, 27570 Bremerhaven, Germany.

*fabroelena@yahoo.com.ar

mayormente beneficiosos para la acuicultura y las pesquerías; sin embargo en algunos casos pueden acarrear efectos negativos tanto para el hombre como para los ecosistemas naturales. A este tipo de proliferaciones dañinas se las conoce como Floraciones Algas Nocivas (FANs) y algunas de ellas son generadas por organismos productores de toxinas que se acumulan a través de las redes tróficas, provocando intoxicaciones en humanos y otros vertebrados principalmente relacionadas con el consumo de moluscos bivalvos.

Las ficotoxinas son un grupo de compuestos químicos de diferente naturaleza y con diversos mecanismos de acción biológica, que pueden provocar distintos síndromes y síntomas en los organismos afectados (Lassus *et al.*, 2016). En particular, las yessotoxinas (YTXs) forman un grupo de aproximadamente 100 análogos de toxinas lipofílicas (Miles *et al.*, 2005) capaces de producir cardiotoxicidad en ratones tras ser inyectadas intraperitonealmente (Terao *et al.*, 1990; Aune *et al.*, 2002) y citotoxicidad frente a algunas líneas celulares de tumores humanos (Konishi *et al.*, 2004). Si bien las YTXs han sido asociadas a toxicidad en moluscos (Satake *et al.*, 1997; MacKenzie *et al.*, 1998) hasta el momento no se han registrado casos de intoxicación de personas, aunque representan un riesgo potencial a la salud humana; por lo cual los países integrantes de la Unión Europea han establecido límites máximos permitidos de YTXs en moluscos para consumo (Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, 2002; Munday *et al.*, 2008; Paz *et al.*, 2013).

Los organismos productores de YTXs conocidos hasta el momento pertenecen al grupo de los dinoflagelados, entre ellos *Protoceratium reticulatum* fue la primera especie en ser considerada como productora de YTXs (Satake *et al.*, 1997). Recientemente, la producción de YTX se confirmó en cultivos de la especie *Lingulodinium polyedra* mediante espectrometría de masas (LC-MS) (Paz *et al.*, 2004; Armstrong & Kudela, 2006). Asimismo, *L. polyedra* fue detectada de manera recurrente formando floraciones en el mar Adriático, durante las cuales también se detectaron YTXs en muestras de plancton (Draisci *et al.*, 1999 como *Gonyaulax polyedra*; Tubaro *et al.*, 1998 como *Lingulodinium polyedrum*). Por otro lado, la presencia de *G. spinifera* en el Mar Adriático en ausencia de *P. reticulatum* y *L. polyedra* en 2004 y 2006, estuvo asociada al establecimiento de vedas para la recolección de mariscos debido a la detección de YTXs en moluscos recolectados

(Riccardi *et al.*, 2009). Luego, la producción de YTXs por parte de *G. spinifera* fue confirmada en un cultivo de Nueva Zelanda por medio del método de ELISA (Rhodes *et al.*, 2006) y en dos cultivos obtenidos del Mar Adriático utilizando LC-MS (Riccardi *et al.*, 2009).

Protoceratium reticulatum es una especie de amplia distribución en mares y océanos de Europa, América, África, Asia y Oceanía (Lassus *et al.*, 2016). Particularmente en Argentina, *P. reticulatum* ha sido recientemente asociada a la presencia de YTXs en muestras de plancton del Golfo San Jorge, a partir de las cuales se estableció un cultivo que mostró un perfil de toxinas dominado por YTX (>95%), con la detección de otros cuatro derivados en forma minoritaria, los cuales no pudieron determinarse fehacientemente a causa de la falta de material de referencia (Akselman *et al.*, 2015). Por otro lado, *G. spinifera* es una especie cosmopolita y ampliamente distribuida en el Mar Argentino (Balech, 1988; Akselman, 1996), la cual no parece contribuir significativamente a la producción de YTXs en el Golfo San Jorge (Akselman *et al.*, 2015). A pesar de que no existen registros de células vegetativas de *L. polyedra* en el plancton del Mar Argentino, se han encontrado sus quistes en sedimentos correspondientes a una estación fija (EPEA) ubicada en las cercanías de Mar del Plata y en la zona común de pesca entre Argentina y Uruguay (Akselman *et al.*, 2015).

En el presente trabajo se describen la distribución y abundancia de las especies previamente citadas como productoras de YTXs junto con la detección y concentración de YTXs en el Mar Argentino en 121 muestras de plancton colectadas a lo largo de cuatro expediciones oceanográficas llevadas a cabo en diferentes estaciones del año.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras

El área de estudio abarcó un extenso sector de la plataforma continental y el talud del Mar Argentino entre los 38 y 56°S, muestreado durante cuatro campañas oceanográficas llevadas a cabo en distintas estaciones del año (primavera, verano y otoño) entre los años 2012 y 2016, con un total de 121 puntos de muestreo (Fig. 1).

La primera campaña, de aquí en adelante denominada “campaña de otoño” o “C1”, tuvo

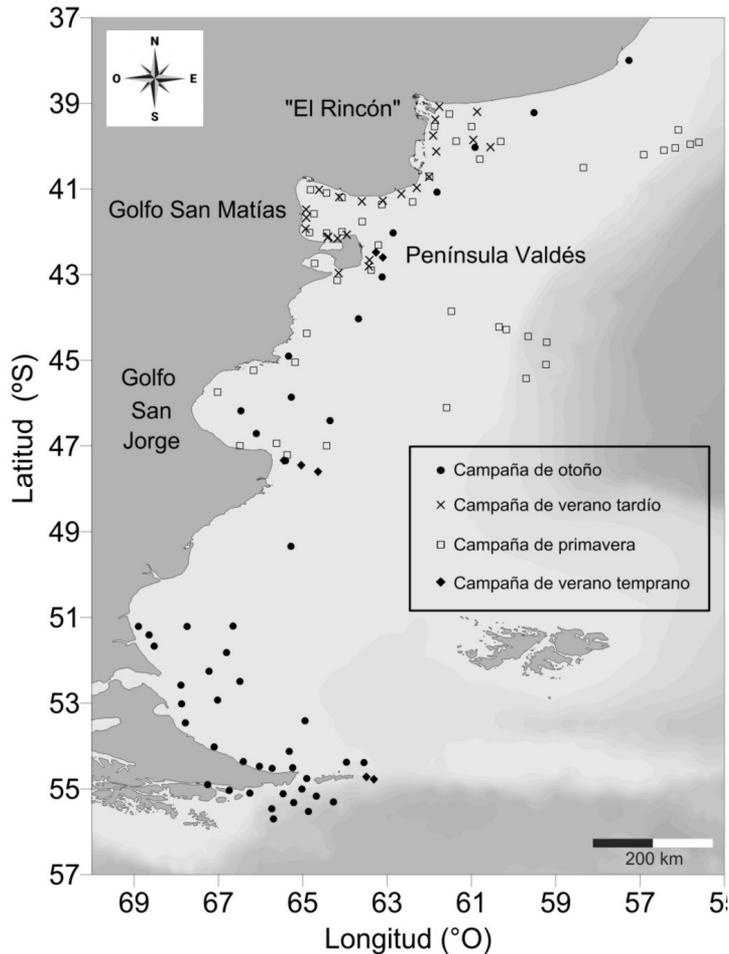


Fig. 1. Mapa del área de estudio indicando los puntos de muestreo de las cuatro campañas oceanográficas realizadas.

lugar a bordo del buque oceanográfico R/V “Puerto Deseado” desde el 30 de marzo hasta el 14 de abril del año 2012, con un total de 46 estaciones de muestreo entre los 38 y los 56°S. La segunda campaña, de aquí en adelante denominada “campaña de verano tardío” o “C2”, se realizó del 11 al 22 de marzo del año 2013 a bordo del buque oceanográfico R/V “Bernardo Houssay” y constó de 24 estaciones de muestreo entre los 39 y los 43°S. Estuvo dividida en dos piernas: la K1 con 8 estaciones desde los 39 hasta los 40.7°S, y la K2 con 16 estaciones desde los 41 a los 43°S. La tercera campaña, denominada en adelante “campaña de primavera” o “C3”, se llevó a cabo desde el 26 de octubre al 9 de noviembre del año 2013 a bordo del buque oceanográfico R/V “Puerto Deseado” con 44

estaciones de muestreo localizadas entre los 39 y los 47°S. La cuarta y última campaña, llamada en adelante “campaña de verano temprano” o “C4”, se llevó a cabo desde el 6 al 12 de enero de 2016 a bordo del buque oceanográfico “Bernardo Houssay” y constó de un total de 7 puntos de muestreo, dos de ellos localizados frente a Península Valdés, tres al sur del Golfo San Jorge y los otros dos frente a la Isla de los Estados (Tierra del Fuego).

En cada una de las campañas oceanográficas y para cada estación de muestreo se tomaron muestras cuantitativas y cualitativas para el análisis del fitoplancton en forma simultánea con la toma de muestras destinadas al estudio de las ficotoxinas. En todas las estaciones de muestreo se obtuvieron datos de salinidad, temperatura y profundidad

(CTD), excepto en las ubicadas en la pierna K2 de la C2, en la cual únicamente se midió la temperatura superficial con un sensor multiparamétrico TOA-DKK Modelo WQC.

Para la toma de muestras cuantitativas se utilizó una roseta equipada con sensores de temperatura y salinidad y botellas Niskin de 5 litros. Las botellas se llenaron con agua de superficie (entre 3 y 10 metros) y 250 mL se fijaron con lugol acético (concentración final = 2%) para los análisis microscópicos de la comunidad planctónica y se mantuvieron en oscuridad y a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis.

Las muestras cualitativas se colectaron mediante arrastres verticales desde los 20 metros de profundidad hasta la superficie, utilizando una red de 20 μm de malla y 30 centímetros de diámetro. Cada lance de red se llevó a un volumen total de 1 L agregando agua de mar filtrada con filtro de 5 μm de malla a fin de estandarizar el volumen total de muestra y de esa manera poder tomar alícuotas para los análisis morfológicos y toxinológicos de igual volumen en todas las estaciones de muestreo. Para el estudio morfológico e identificación de las distintas especies, fueron obtenidas alícuotas de 20 mL (C1) y 100 mL (C2-C4) que se fijaron con lugol acético (concentración final = 2%) y se mantuvieron en la oscuridad y a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis. La cantidad restante de muestra se filtró por gravedad a través de un tamiz compuesto de tres mallas de Nitex de 200, 50 y 20 μm . Luego el material colectado en cada malla fue resuspendido hasta un volumen final de 40 mL utilizando agua de mar filtrada y una pisseta. El material obtenido de cada fracción de tamaño fue centrifugado en tubos de centrifugación de 45 mL durante 30 minutos a 3.000 x g. Los pellets resultantes de esta primera centrifugación fueron divididos en dos alícuotas iguales, destinadas al análisis de toxinas lipo- e hidrofílicas. Una vez realizada la división en alícuotas, las muestras fueron centrifugadas nuevamente en tubos de 2 mL durante 15 minutos a 10.000 x g. Los pellets obtenidos de la segunda centrifugación fueron guardados a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la extracción de toxinas. Durante la C1 no se obtuvieron muestras de red en las estaciones I12 e I13 debido a problemas meteorológicos.

Análisis microscópicos

El análisis de las muestras cuantitativas se realizó mediante la técnica de Utermöhl (1958) utilizando un microscopio invertido con contraste de fases Leica

DMIL LED. Se dejaron sedimentar 50 mL de muestra de cada estación de muestreo durante 24 horas. Para la cuantificación de los organismos se examinó la superficie total de la cámara de sedimentación o una cantidad variable de campos al azar (≥ 10), dependiendo de la cantidad de organismos presentes de los diferentes taxones. El límite de detección fue de 20 cél. L⁻¹.

Adicionalmente se realizaron análisis cualitativos de las muestras de red con el objetivo de determinar los dinoflagelados tóxicos hasta el menor nivel taxonómico posible. A tal fin se realizaron observaciones de alícuotas de muestra de cada estación mediante un microscopio de contraste de fase equipado con una lámpara de epifluorescencia y uno de contraste de interferencia modelo Leica DM2500, ambos equipados con una cámara DFC420C. Para el estudio taxonómico detallado de los dinoflagelados se observaron alícuotas teñidas con CalcoFluor utilizando microscopía de epifluorescencia UV, de acuerdo a Fritz & Triemer (1985). Los análisis ultraestructurales se realizaron utilizando un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-6360 LV del Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) del Museo de La Plata y un microscopio electrónico de barrido Carl Zeiss NTS (SUPRA 40) del Centro de Microscopías Avanzadas (CMA) de la Universidad de Buenos Aires. El material a analizar se deshidrató a través de series de diluciones de etanol (25, 50, 75, 100%) y el secado final se realizó utilizando la técnica de punto crítico. Por último las muestras se metalizaron con oro previo a su observación al MEB.

Finalmente, con el propósito de analizar la relación entre la densidad celular de dinoflagelados potencialmente productores de YTXs y la concentración de las mismas, se realizaron recuentos celulares de alícuotas de 1 mL de las muestras de red utilizando cámaras Sedgewick-Rafter (LeGresley & McDermott, 2010) en un microscopio invertido con contraste de fases Leica DMIL LED. Para la cuantificación de los organismos se examinó la superficie total de la cámara utilizando un aumento de 10 X, o una cantidad variable de campos al azar (≥ 10) utilizando un aumento de 20 X, dependiendo de la cantidad de organismos presentes. Las densidades estimadas se expresan como células por lance de red (cél. LR⁻¹).

El grado de asociación entre células y toxinas se estableció mediante el índice de correlación de Spearman aplicando el software Statistica 7.1.

Análisis de toxinas

Para el análisis de toxinas lipofílicas los pellets obtenidos de las muestras de red se resuspendieron en 500 μL de metanol y homogeneizaron junto con 0,9 g de matriz lítica D (esferas pequeñas utilizadas para la ruptura de paredes celulares) utilizando un homogeneizador por batido Bio101 FastPrep a 6,5 m s^{-1} por 45 s. Luego de la homogenización, las muestras fueron centrifugadas a 16.100 \times g a 4°C por 15 min. Los sobrenadantes fueron transferidos a filtros de centrifugación de 0,45 μm de poro (Millipore Ultrafree, Eschborn, Alemania) y centrifugados durante 30 s a 800 \times g. Por último, los filtrados se transfirieron a viales para su análisis con cromatografía líquida (HPLC) acoplada con espectrometría de masa en tándem (MS-MS) en la División de Química Ecológica del Alfred Wegener Institute, Bremerhaven, Alemania, como se describe en Krock *et al.* (2008). Los datos se presentan como nanogramos detectados por lance de red (ng LR^{-1}).

Estimación de cuotas celulares

Con el propósito de estimar las cuotas celulares de YTX, entendidas como la cantidad promedio de toxina presente en una célula, se utilizaron los resultados de los recuentos celulares y los de análisis de toxinas, realizados a partir de muestras de red. A tal fin se realizó el cociente entre el contenido de toxinas y el número de células para cada estación de muestreo. Sólo se estimaron cuotas celulares de toxinas en las estaciones de muestreo en las cuales se encontró una única especie potencialmente productora de la toxina en cuestión o, en el caso de haber más de un productor potencial, las cuotas se calcularon sólo cuando una de las especies representó al menos el 90% del total de células de los productores potenciales.

De acuerdo a las recomendaciones reportadas por el Consejo Internacional para la Exploración del Mar (en inglés: International Council for the Exploration of the Sea, ICES) (ICES, 2006), sólo se estimaron cuotas celulares para aquellas muestras en las que se contaron más de 10.000 células por litro de muestra de red del taxón tóxico a considerar en las cuotas celulares.

Las toxinas presentes en la fracción $>200 \mu\text{m}$ no fueron consideradas en la estimación de cuotas celulares ya que no existen productores de YTXs mayores a 200 μm . Las cuotas celulares de toxinas se expresan como picogramos de toxina por célula (pg cél.^{-1}).

RESULTADOS

Descripción morfológica de las especies encontradas

Protoceratium reticulatum (Claparède & Lachmann) Bütschli (Fig. 2)

Balech (1988): 169, Lam. 77, Figs. 1-5 (*Gonyaulax grindleyi*)

Basiónimo: *Peridinium reticulatum* Claparède & Lachmann.

Sinónimos: *Peridiniopsis reticulatum* (Claparède & Lachmann) Starmach; *Gonyaulax grindleyi* Reinecke.

Contorno ovoide, pentagonal a poligonal, sin cuello ni espinas. Epiteca con forma de domo, más pequeña que la hipoteca (Figs. 2 A, B). Reticulación teal muy particular formada por un reticulado de areolas poligonales, cada una con una protuberancia central en forma de cresta, la cual posee un poro (Figs. 2 B, C). Cingulum muy excavado, con marcada reticulación, descendente (1-1,5 veces su altura) y sin entrecruzamiento; sulcus angosto y corto (Figs. 2 C, D). Placa 1' con un poro en la región apical derecha (Figs. 2 C, D). Presencia de tres placas apicales (3') y una placa intercalar (1a) en todas las células analizadas ($n = 20$) (Figs. 2 E-H).

Dimensiones: largo 39-55,5 μm (promedio 46 μm , ± 4); ancho 33-48 μm (promedio 40 μm , ± 4) ($n = 23$).

Gonyaulax spinifera (complejo de especies) (Claparède & Lachmann) Diesing (Fig. 3)

Balech (1988): 166, Lam. 74, Figs. 1-4.

Basiónimo: *Peridinium spiniferum* Claparède & Lachmann

Sinónimos: *Peridinium levanderi* Lemmermann; *Spiniferites ramosus* (Ehrenberg) Mantell; *Gonyaulax levanderi* (Lemmermann) Paulsen; *Tectatodinium pellitum* Wall.

Contorno celular caracterizado por la presencia de espinas antapicales bien desarrolladas (Fig. 3 A), un cuello prominente y hombro derecho muy marcado (Figs. 3 A, B). Cingulum muy excavado y claramente descendente (2-2,5 veces su altura) con entrecruzamiento muy evidente (Figs. 3 C-E). Placa 6'' triangular con un borde izquierdo cóncavo (Figs. 3 C, D). Areolas casi circulares las cuales pueden o no estar perforadas o presentar poros entre ellas (Figs. 3 D-F). Presencia de dos (Figs. 3 D, E) o tres (Fig. 3 F) espinas antapicales.

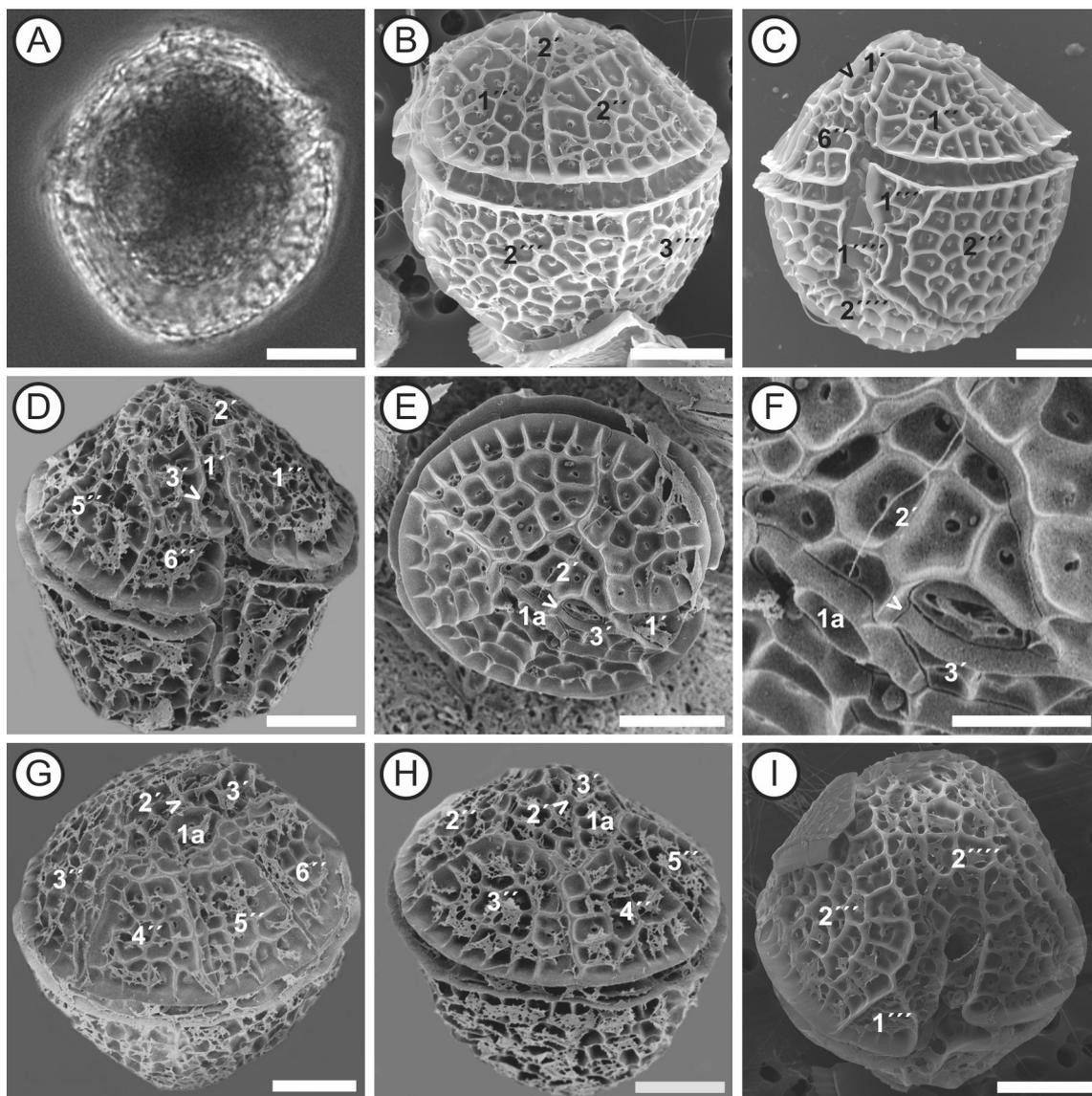


Fig. 2. *Protoceratium reticulatum*. (A) Microscopía óptica con contraste de fases, (B-I) Microscopía electrónica de barrido. A, B: Vista general lateral. C, D: Vista ventral, note la presencia de un poro ventral en la placa 1' (flechas). E: Vista apical, note la presencia de la placa intercalar (1a). F: Detalle de E, note la sutura entre las placas 2' y 3' (flecha). G, H: Vista dorso-apical, note la sutura entre las placas 2' y 3' (flechas). I: Vista antapical. Escala= A-E, G-I: 10 µm. Escala= F: 5 µm.

Dimensiones: largo 37-69 µm (promedio 51 µm, ± 9); ancho 32-55 µm (promedio 43 µm, ± 7); (n = 20).

Distribución, abundancia y toxinas asociadas
Campaña de otoño (C1)

La especie *Protoceratium reticulatum* estuvo presente en cuatro muestras cuantitativas colectadas

en el Golfo San Jorge y aguas circundantes (Fig. 4 A) en abundancias de 20 a 120 cél. L⁻¹ que representaron entre el 0,1 y 1,3 % de la abundancia total de los dinoflagelados (promedio= 0,5 %). Adicionalmente se la encontró en una muestra de red colectada en aguas adyacentes a la boca del Golfo San Jorge (45°S). Por su parte, se detectaron representantes del complejo *Gonyaulax spinifera*

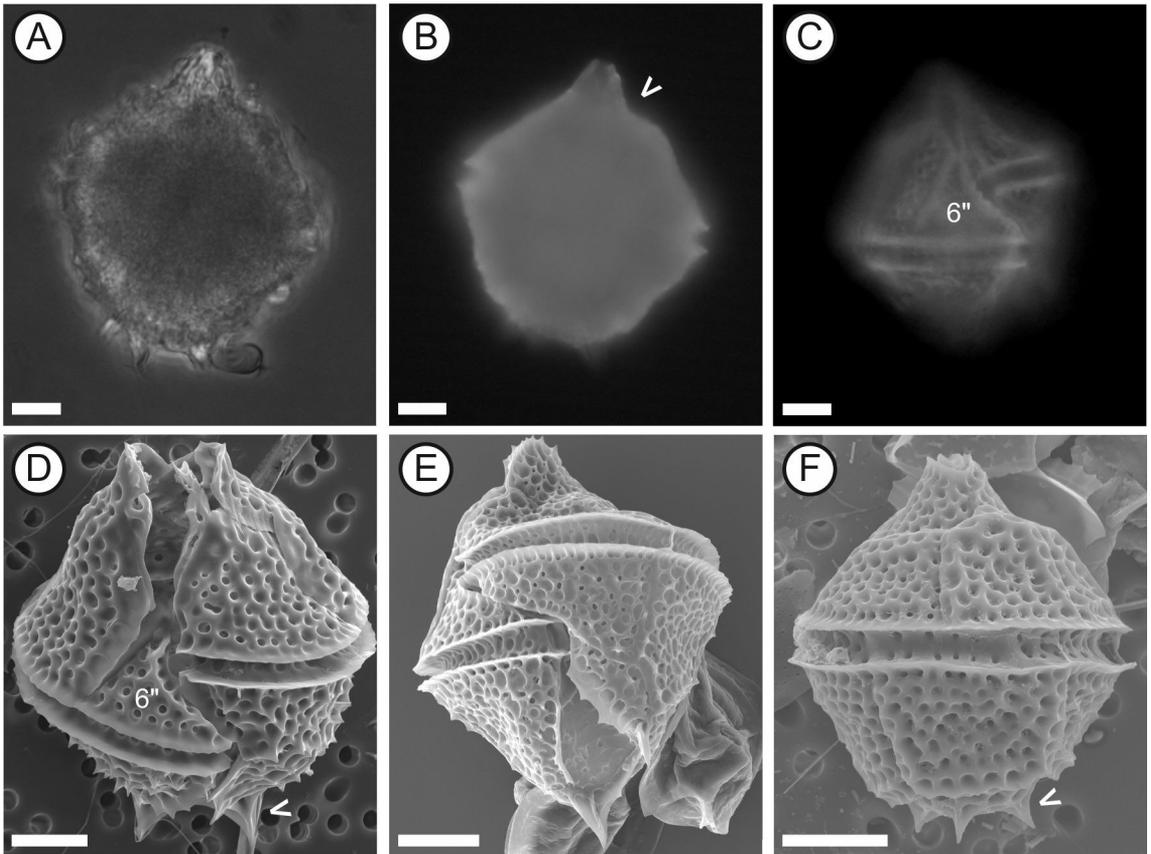


Fig. 3. *Gonyaulax spinifera*. (A) Microscopía óptica, (B, C) Microscopía óptica de fluorescencia y (D-F) Microscopía electrónica de barrido. A, B: Vista general dorsal, note las espinas antapicales, el prominente cuello y el hombro derecho marcado (flecha). C: Vista ventro-lateral derecha, note la forma triangular de la placa 6" y el marcado desplazamiento descendente del cingulum. D: Vista ventro-apical, note el borde izquierdo cóncavo de la placa 6" y la presencia de dos espinas antapicales (flecha). E: Vista ventral, note el entrecruzamiento cingular. F: Vista dorsal, note la presencia de tres espinas antapicales (flecha). Escala= 10 μ m.

en tres muestras cuantitativas correspondientes al Golfo San Jorge y aguas circundantes, en las que representaron entre el 0,5 y 1,5 % de la abundancia total de los dinoflagelados (promedio = 0,8 %). El complejo *G. spinifera* se encontró además en tres muestras de red correspondientes a dos estaciones ubicadas en el Golfo San Jorge y a una al norte del golfo (44°S) (Fig. 4 B).

El rango de temperatura en que se encontraron células de *P. reticulatum* fue de 12 a 14 °C y el de salinidad de 33,3 a 33,6. *G. spinifera* se encontró en un rango de temperatura de 12 a 16 °C y a salinidades de 33,4 a 33,9. Las densidades celulares máximas de ambas especies se presentaron a 13 °C y 33,4 de salinidad.

La presencia de YTX se detectó en cinco estaciones correspondientes al Golfo San Jorge, en muestras de la fracción de 20 a 50 μ m en concentraciones de 24 a 343 ng LR⁻¹ (Tabla 1). Adicionalmente se detectó YTX en tres muestras de la fracción de 50-200 μ m correspondientes a estaciones de la misma zona.

En las cinco estaciones con detección de YTX (Fig. 5) también se encontraron células de *P. reticulatum* en muestras de red no fraccionadas, en abundancias entre 4 y 40 x 10³ cél. LR⁻¹; presentando una correlación alta y significativa entre densidad celular y concentración de toxinas ($r = 0,99$ p < 0,05). Por otro lado, en cuatro de ellas también se encontraron células de *G. spinifera*, aunque siempre

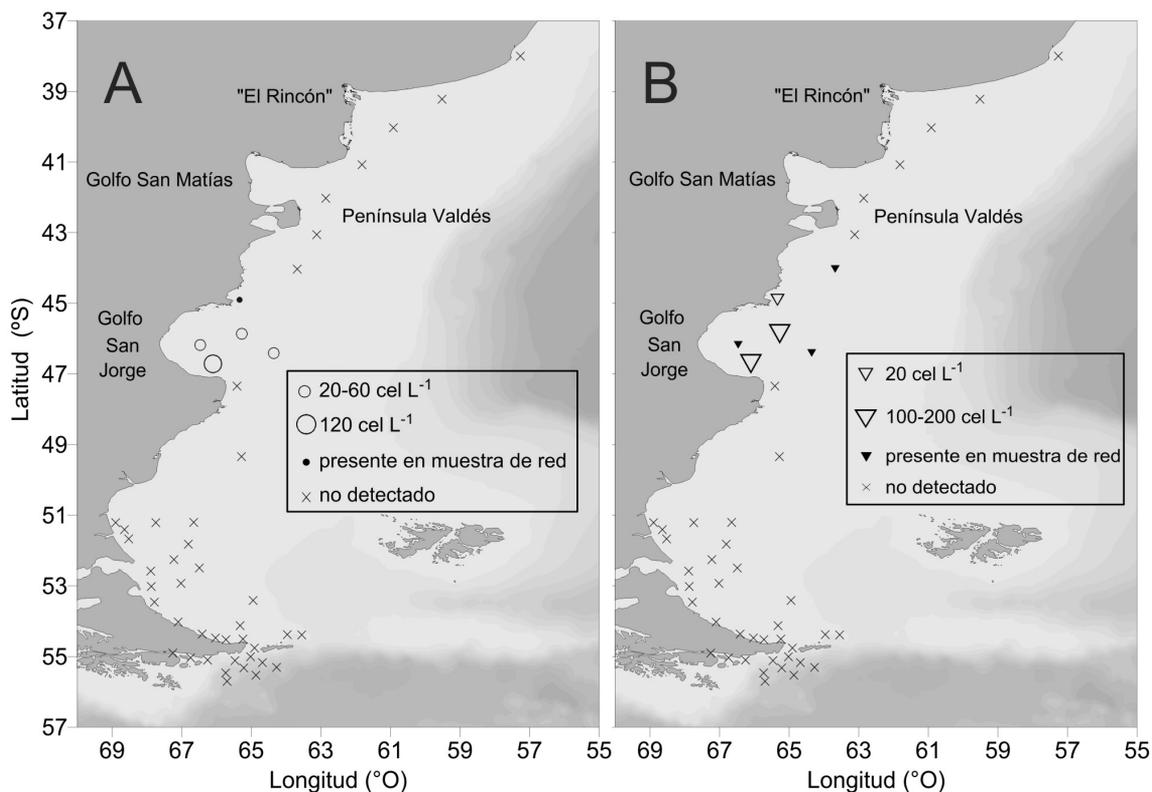


Fig. 4. Distribución y abundancia en muestras cuantitativas y presencia en muestras cualitativas de *Protoceratium reticulatum* (A) y *Gonyaulax spinifera* (B) durante la C1.

en menor abundancia que *P. reticulatum* (Fig. 5) y presentando una menor correlación ($r = 0,87$ $p < 0,05$). Las cuotas celulares de YTX estimadas para *P. reticulatum*, en las dos estaciones con densidades suficientes, fueron de 7,5 y 12,5 pg cél.⁻¹.

Campaña de verano tardío (C2)

Protoceratium reticulatum no se detectó ni en las muestras cuantitativas ni en las cualitativas durante esta campaña. Por el contrario, el complejo de especies *G. spinifera* se encontró en nueve muestras cualitativas correspondientes al Golfo San Matías (Fig. 6), en abundancias de 3 a 28 x 10³ cél. LR⁻¹, pero no se detectó en ninguna muestra cuantitativa. El rango de temperatura en que se encontraron células de *G. spinifera* fue de 14 a 18 °C. No se detectaron YTXs durante esta campaña (Tabla 1).

Campaña de primavera (C3)

La especie *P. reticulatum* estuvo presente en tres muestras cuantitativas ubicadas al norte del Golfo

San Jorge y en aguas de plataforma cercanas al talud a los 44°S en abundancias de 20 a 660 cél. L⁻¹ y representó entre el 0,1 y 4,5 % de la abundancia total de los dinoflagelados (promedio = 1,6 %). Adicionalmente, se la encontró en cinco muestras cualitativas correspondientes al Golfo San Jorge y a aguas del talud a los 39 y 44°S (Fig. 7 A).

En seis muestras cuantitativas correspondientes al Golfo San Jorge y aguas del talud a los 39 y 44°S se detectaron representantes del complejo *G. spinifera*. Las densidades celulares alcanzadas variaron entre 20 y 140 cél. L⁻¹ y representaron entre el 0,03 y 1,3 % de la abundancia total de los dinoflagelados (promedio = 0,3 %). Además se encontraron células del complejo en 11 muestras cualitativas obtenidas en aguas del talud, en el Golfo San Jorge y en aguas adyacentes a la Península Valdés (Fig. 7 B).

El rango de temperatura en que se encontraron células de *P. reticulatum* fue de 10 a 12 °C y la salinidad de 33,1 a 33,7, con densidades celulares

Tabla 1. Tabla resumen de los resultados de abundancias de *P. reticulatum*, *G. spinifera* y YTX, cuotas celulares y correlaciones a lo largo de las cuatro campañas realizadas. nd = no detectado, n = cantidad de muestras, - = sin datos.

	C1	C2	C3	C4
Abundancia en muestras de botella (cuantitativas)				
<i>P. reticulatum</i>	20-120 cél. L ⁻¹ (n=4)	nd	20-660 cél. L ⁻¹ (n=3)	nd
<i>G. spinifera</i>	20-140 cél. L ⁻¹ (n=3)	nd	20-140 cél. L ⁻¹ (n=6)	nd
Abundancia en muestras de red fracción 20-50 µm				
<i>P. reticulatum</i>	-	-	1-126 x 10 ³ cél. (n=8)	-
<i>G. spinifera</i>	-	-	1-21 x 10 ³ cél. (n=17)	-
YTX	24-343 (n=5)	nd	14-283 ng LR ⁻¹ (n=4)	nd
Abundancia en muestras de red fracción 50-200 µm				
<i>P. reticulatum</i>	-	-	1-13 x 10 ³ cél. (n=7)	-
<i>G. spinifera</i>	-	-	1-15x 10 ³ cél. (n=16)	-
YTX	68-160 ng LR ⁻¹ (n=3)	nd	88 ng LR ⁻¹ (n=1)	nd
Abundancia en muestras de red fracciones integradas				
<i>P. reticulatum</i>	4-40 x 10 ³ cél. LR ⁻¹ (n=5)	nd	1-139 x 10 ³ cél. LR ⁻¹ (n=8)	nd
<i>G. spinifera</i>	2-20 x 10 ³ cél. LR ⁻¹ (n=6)	3-28 x 10 ³ cél. LR ⁻¹ (n=9)	1-36 x 10 ³ cél. LR ⁻¹ (n=17)	9-12 x 10 ³ cél. LR ⁻¹ (n=2)
YTX	24-343 ng LR ⁻¹ (n=5)	nd	14-371 ng LR ⁻¹ (n=4)	nd
Cuotas celulares				
<i>P. reticulatum</i> (fracción 20-50 µm)	-	-	2,2 ng cél. ⁻¹	-
<i>P. reticulatum</i> (fracción 50-200 µm)	-	-	6,5 ng cél. ⁻¹	-
<i>P. reticulatum</i> (fracciones integradas)	7,5-12,5 ng cél. ⁻¹ (n=2)	nd	3 ng cél. ⁻¹	nd
Correlación				
<i>P. reticulatum</i> y YTX	r = 0,99	nd	r = 0,73/0,4	nd
<i>G. spinifera</i> y YTX	r = 0,87	nd	r = 0,17	nd

máximas a 12 °C y 33,4. *G. spinifera* se encontró a temperaturas entre 7 y 12 °C y a salinidades entre 33,4 y 33,9, con densidades celulares máximas a 8 °C y a una salinidad de 33,9.

La presencia de YTX se detectó en cuatro estaciones, para la fracción del fitoplancton de 20-50 µm, en aguas del talud y de la plataforma a los 44°S y del Golfo San Jorge. Las concentraciones halladas variaron entre 14 y 283 ng LR⁻¹ (Tabla 1).

Además se detectó YTX en la fracción de 50-200 µm de la estación 45, correspondiente a aguas de plataforma cercanas al talud a los 44°S, en una concentración de 88 ng LR⁻¹. *P. reticulatum* estuvo presente en todas las muestras en las que se detectó YTX (Fig. 8), tanto en las cuatro correspondientes a la fracción de 20-50 µm como en la de la fracción de 50-200 µm. Adicionalmente la especie fue hallada en concentraciones bajas (< 2 x 10³ cél. LR⁻¹) en

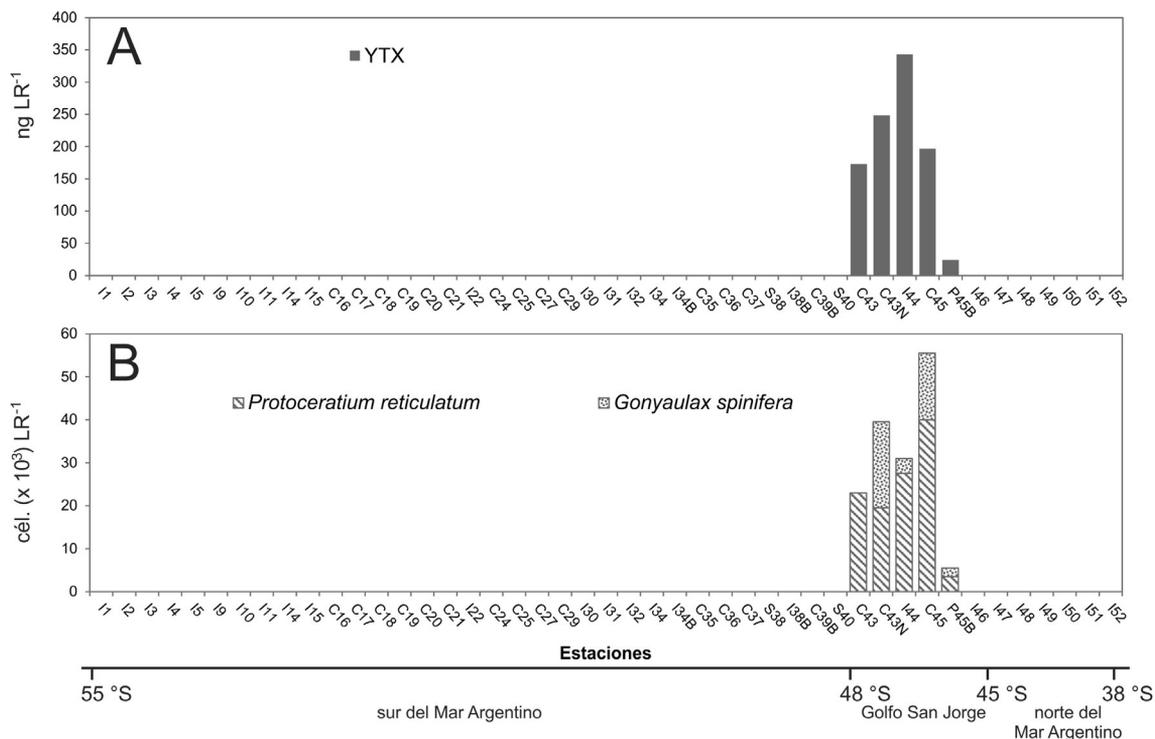


Fig. 5. Concentración de YTX (A) en la fracción de 20-50 μm y abundancia de células de *P. reticulatum* y *G. spinifera* (B) en muestras cualitativas no fraccionadas a lo largo de la C1.

cuatro muestras de la fracción menor y en seis de la fracción mayor en las cuales no se detectaron YTXs.

Los valores de abundancia celular de *P. reticulatum* y concentración de YTX presentaron una correlación significativa en ambas fracciones ($r = 0,73$ y $0,4$ $p < 0,05$). Las cuotas celulares de YTX estimadas para *P. reticulatum* en la fracción de 20-50 μm y de 50-200 μm fueron de 2,2 y 6,5 $\text{pg} \text{cél.}^{-1}$ respectivamente.

En tres de las cuatro muestras en las que se detectaron toxinas en la fracción de 20-50 μm se encontraron células correspondientes al complejo *G. spinifera*, aunque siempre en abundancias inferiores a *P. reticulatum*. La correlación entre densidad celular de *G. spinifera* y YTX resultó baja y no significativa ($r = 0,17$ $p > 0,05$).

Campaña de verano temprano (C4)

Protoceratium reticulatum no se detectó en muestras cuantitativas ni cualitativas, mientras que el complejo *G. spinifera* se observó en dos muestras de red correspondientes al sur del Mar Argentino

(55°S), en densidades de 9 y 12 x 10³ cél. LR^{-1} (Fig. 9). El rango de temperatura en que se encontraron células del complejo *G. spinifera* fue de 5 a 8 °C y la salinidad de 33,5 a 34. No se detectaron YTXs durante esta campaña (Tabla 1).

DISCUSIÓN

Variabilidad morfológica de los taxones identificados

Si bien *P. reticulatum* y *G. spinifera* pertenecen a géneros diferentes, son morfológicamente semejantes entre sí, con una estructura fina muy similar y semejanzas a nivel ultraestructural de las organelas (plástidos, pirenoide y sistema pusular) (Hansen *et al.*, 1996/1997). Sin embargo, la diferenciación morfológica puede realizarse mediante microscopía óptica en base a caracteres de la forma general de la célula, la posición del cingulum, la reticulación tecal y la presencia/ ausencia de espinas antapicales (Balech, 1988).

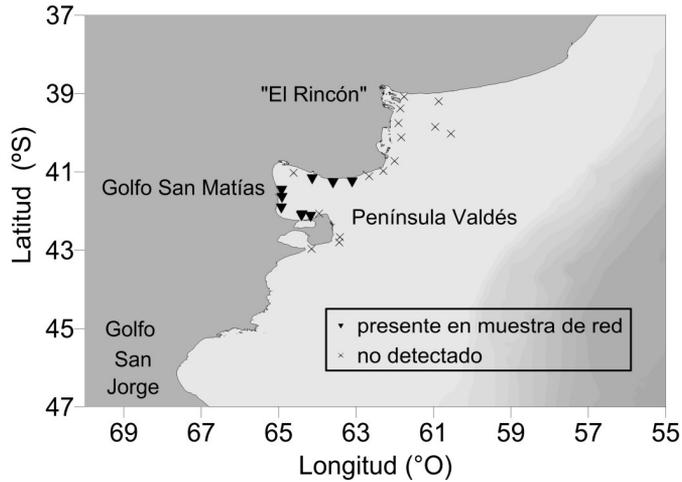


Fig. 6. Distribución del complejo *Gonyaulax spinifera* en muestras de red durante la C2.

Los ejemplares de *P. reticulatum* analizados en este estudio son morfológicamente semejantes a los descritos por Balech (1988 bajo el nombre *Gonyaulax grindleyi*), aunque presentan diferencias en el rango de tamaño de las células (largo: 39,0-55,5 μm ; ancho: 33-48 μm) el cual fue levemente mayor al descrito por Balech (1988) para especímenes del Mar Argentino (largo: 35-45 μm ,

ancho: 28-37 μm) y por Akselman *et al.* (2015) para el Golfo San Jorge (largo: 34–39 μm , ancho: 29-31 μm). En este sentido, Paz *et al.* (2013) encontraron una variación significativa en el biovolumen de distintas cepas de *P. reticulatum* aisladas de aguas marinas de España. Los especímenes analizados durante este estudio presentaron en la epiteca tres placas apicales y una intercalar, lo cual concuerda

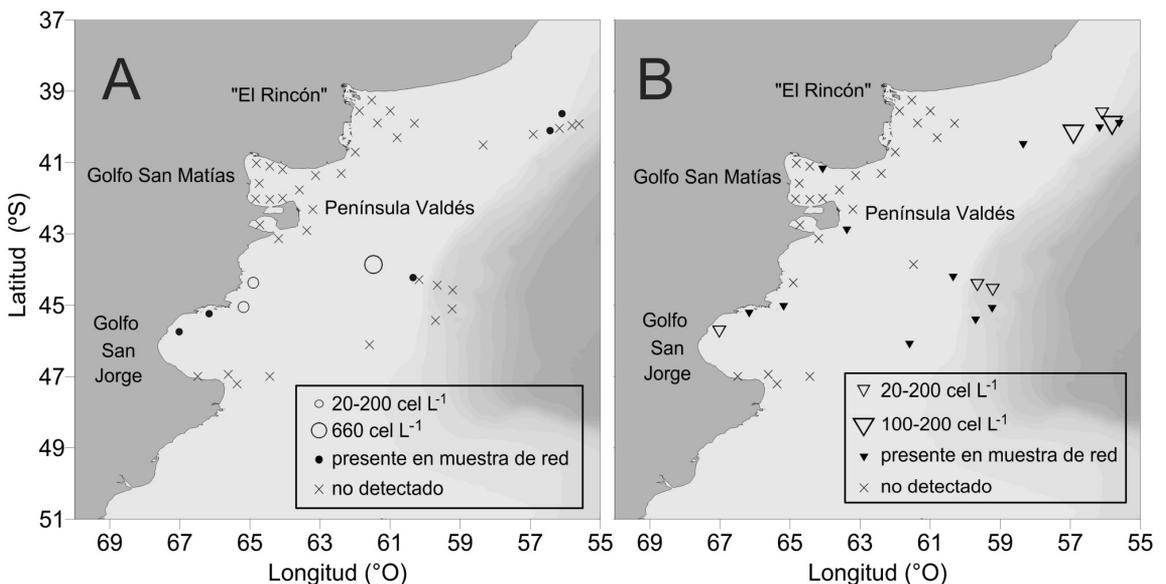


Fig. 7. Distribución y abundancia en muestras cuantitativas y presencia en muestras cualitativas de *Protoceratium reticulatum* (A) y *G. spinifera* (B) durante la C3.

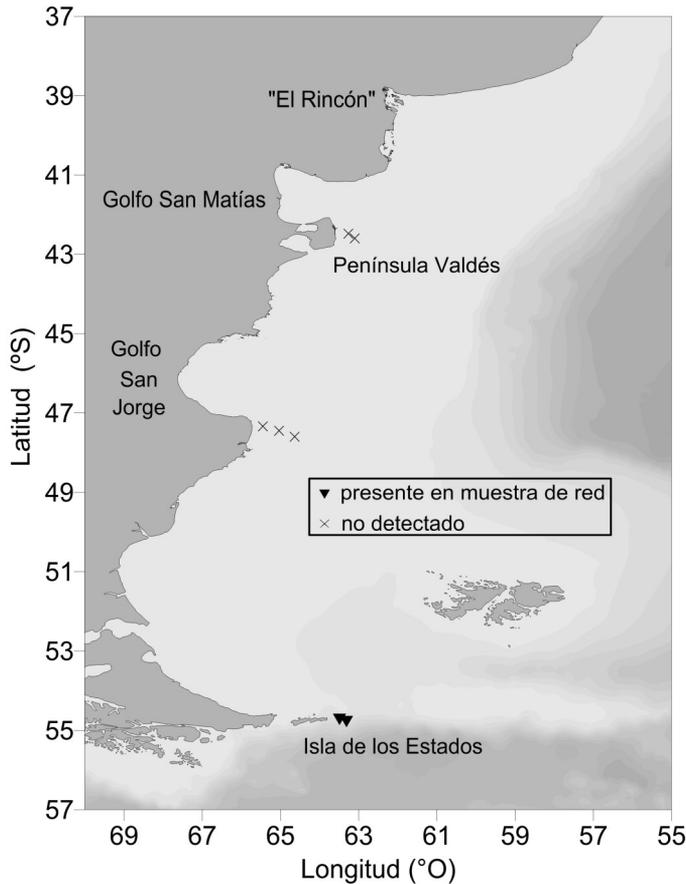


Fig. 9. Distribución del complejo *Gonyaulax spinifera* en muestras cualitativas durante la C4.

mejor las diferencias genéticas entre las especies que las características morfológicas de las células vegetativas. Por otro lado, la variabilidad molecular del complejo podría implicar la presencia de especies crípticas ya que existen cepas de *G. spinifera* que no forman un grupo monofilético sino que poseen mayor cercanía filogenética con otras especies de morfología similar, como *G. digitalis* (Riccardi *et al.*, 2009). No obstante, las pocas secuencias disponibles para este complejo de especies dificulta la determinación fehaciente a nivel específico desde el punto de vista molecular (Riccardi *et al.*, 2009). En este contexto y dada la incertidumbre que actualmente existe sobre la identidad de las especies del complejo *G. spinifera* (Riccardi *et al.*, 2009), en este estudio se optó por considerar a los ejemplares definidos en base a su

morfología como *G. spinifera* y *G. digitalis* como integrantes del complejo de especies *G. spinifera*.

Distribución y toxinas asociadas

El patrón de distribución de *P. reticulatum* encontrado en este estudio se asemeja al mencionado en los registros históricos de la especie desde los 37 a los 47°S (Balech, 1988), aunque Akselman *et al.* (2015) la hallaron también más al sur, a los 49 y 53°S. Por otro lado, el complejo *G. spinifera* presentó una distribución más amplia, desde los 39°S a los 55°S, lo cual concuerda con la distribución citada en la literatura, desde los 37°S hasta la convergencia antártica (Balech, 1988). Asimismo, *G. spinifera* se observó a rangos de temperatura y salinidad más amplios que *P. reticulatum* (5-16 °C; 32,2-34,0 y 10-14 °C; 33,1-33,7 respectivamente).

Las densidades celulares detectadas durante este estudio para ambos taxones fueron bajas, con máximos durante la campaña de primavera de 660 y 140 cél. L⁻¹ para *P. reticulatum* y el complejo *G. spinifera*, respectivamente. Mientras que *P. reticulatum* habitualmente presenta bajas abundancias poblacionales (Aasen *et al.*, 2005; Seguel *et al.*, 2005), *G. spinifera* suele formar floraciones e incluso producir eventos de muerte masiva de biota marina (Margalef, 1956; Riaux-Gobin & Lassus, 1989; Praseno *et al.* 1999; Fukuyo *et al.*, 2003; Riccardi *et al.*, 2009; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2014). Aunque ambas especies fueron consideradas de aguas frías por Balech (1988), experimentos realizados con *P. reticulatum* permitieron establecer que la mayor tasa de división celular se produce a los 20 °C y la mínima a los 10 °C (Houghton *et al.*, 2016). Asimismo se registró una floración de *P. reticulatum* al norte de Chile bajo condiciones de mezcla de masas de agua cálidas (21 a 25 °C) con masas de agua provenientes de un intenso afloramiento (Álvarez *et al.*, 2011).

A menudo, cuando una misma toxina es sintetizada por más de una especie, resulta complejo identificar en el campo al organismo responsable de dicha toxicidad. Tal es el caso de la producción de YTXs, debido a la reciente confirmación de *Lingulodinium polyedra* y *Gonyaulax spinifera* como especies productoras (Paz *et al.*, 2004; Armstrong & Kudela, 2006; Riccardi *et al.*, 2009). Particularmente en el Mar Argentino existe un único estudio abocado a la determinación de YTXs y especies productoras (Akselman *et al.*, 2015), por lo cual aún no se posee un conocimiento fehaciente sobre los roles respecto de la producción de toxinas de las dos especies tóxicas citadas para la región (*P. reticulatum* y *G. spinifera*). Sin embargo, los resultados presentados en este trabajo sustentan la asociación entre *P. reticulatum* y YTXs en el Mar Argentino, ya que durante las C1 y C3 la detección de YTX presentó una clara asociación con la presencia de la mencionada especie. Por el contrario, el complejo *G. spinifera* estuvo presente en muestras de red en abundancias moderadas durante las C2 y C4 en las que no se detectaron YTXs. Los únicos dos cultivos de *G. spinifera* para los cuales se ha comprobado fehacientemente la producción de YTXs a nivel mundial (utilizando LC-MS), mostraron diferentes perfiles tóxicos. Uno presentó bajas cuotas celulares (5,4 pg cél.⁻¹) y dominancia de YTX (como en *P. reticulatum*), mientras que el otro presentó cuotas

celulares más altas (33,4 pg cél.⁻¹) y dominancia de homo-YTX (Riccardi *et al.*, 2009). No obstante, el análogo homo-YTX típico de *G. spinifera* no se detectó en el presente estudio durante ninguna de las cuatro campañas de muestreo realizadas y tampoco existen antecedentes de análisis de toxicidad en cultivo para cepas argentinas.

Las cuotas celulares de YTX para *P. reticulatum* variaron entre 2,2 y 12,5 pg YTX cél.⁻¹, y resultaron ser similares a las encontradas para las cepas aisladas del Golfo San Jorge, las cuales presentaron cuotas de 9,1 a 10,2 pg YTX cél.⁻¹ (Akselman *et al.*, 2015) y de 3 a 7 pg YTX cél.⁻¹ (Houghton *et al.*, 2016). Por el contrario, durante una floración de *P. reticulatum* en Bahía Mejillones, Chile, las cuotas celulares de YTX fueron considerablemente menores (0,2 y 0,4 pg cel.⁻¹), aunque los autores mencionan una posible subestimación en el contenido de toxina dada por la preservación de las muestras con formaldehído (Álvarez *et al.*, 2011). En cualquier caso, la producción de YTXs, e incluso los perfiles tóxicos, suelen variar dependiendo del origen de las cepas, e incluso las cuotas celulares en cepas de la misma región suelen presentar una gran variación (ej., 2,9-28,6 pg YTX cél.⁻¹ para cuatro cepas de España) (Paz *et al.*, 2007).

El perfil de toxinas asociado a *P. reticulatum* en este estudio estuvo representado únicamente por YTX, coincidente con el perfil hallado en Chile y el Golfo San Jorge, (Krock *et al.*, 2009; Álvarez *et al.*, 2011, Akselman *et al.*, 2015), el cual de acuerdo a Paz *et al.* (2007) parece ser el típico de *P. reticulatum*.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos a partir de este estudio confirman a la especie *P. reticulatum* como la principal productora de YTXs en el Mar Argentino, mientras que *G. spinifera* representa un productor potencial en la región que hasta el momento no ha mostrado una asociación clara con la detección de YTX. El área de registro de YTXs en muestras de plancton, hasta el momento acotada al Golfo San Jorge (Akselman *et al.*, 2015), se amplió a áreas de la plataforma externa cercanas al talud continental (44°S). No obstante, las mayores concentraciones de YTX y *P. reticulatum* se observaron en el Golfo San Jorge, lo cual puede considerarse como un alerta respecto del desarrollo de futuros eventos tóxicos vinculados a esta especie en la zona.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Wolfgang Drebing (AWI) por la extracción y análisis de las toxinas lipofílicas. Asimismo se agradece a la cordial tripulación del buque oceanográfico Puerto Deseado (CONICET-MINDEF, Argentina) y del Motovelero Bernardo Houssay (Prefectura Naval Argentina). Este trabajo estuvo parcialmente financiado por el centro alemán Helmholtz-Gemeinschaft mediante el programa PACES del Alfred Wegener Institute (AWI) y por el proyecto binacional MINCyTBMBF (AL/11/03-ARG 11/021). Además se contó con el financiamiento de los subsidios PIP 0122 (CONICET) y PICT 0576 (ANPCyT) y por el programa IMCONet (FP7 IRSES, Action No. 319718).

BIOBLOGRAFÍA

- AASEN, J., I. A.SAMDAL, C. O. MILES, E. DAHL, L. R. BRIGGS & T. AUNE. 2005. Yessotoxins in Norwegian blue mussels (*Mytilus edulis*): uptake from *Protoceratium reticulatum*, metabolism and depuration. *Toxicon* 45: 265-272.
- AKSELMAN, R. 1996. *Estudios ecológicos en el Golfo de San Jorge y adyacencias (Atlántico sudoccidental). Distribución, abundancia y variación estacional del fitoplancton en relación a factores físico-químicos y la dinámica hidrológica*. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
- AKSELMAN, R., B. KROCK, T. J. ALPERMANN, U. TILLMANN, M. BOREL, G. O. ALMANDOZ, & M. E. FERRARIO. 2015. *Protoceratium reticulatum* (Dinophyceae) in the austral Southwestern Atlantic and the first report on YTX-production in shelf waters of Argentina. *Harmful Algae* 45: 40-52.
- ÁLVAREZ, G., E. URIBE, R. DÍAZ, M. BRAUN, C. MARIÑO & J. BLANCO. 2011. Bloom of the Yessotoxin producing dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* (Dinophyceae) in Northern Chile. *J. Sea Res.* 65: 427-434.
- ARMSTRONG, M. & R. KUDELA. 2006. Evaluation of California isolates of *Lingulodinium polyedrum* for the production of yessotoxin. *Afr. J. Mar. Sci.* 28: 399-401.
- AUNE, T., R. SØRBY, T. YASUMOTO, H. RAMSTAD & T. LANDSVERK. 2002. Comparison of oral and intraperitoneal toxicity of yessotoxin towards mice. *Toxicon* 40: 77-82.
- BALECH, E. 1988. *Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental*. Publ. Espec. Inst. Esp. Oceanogr. 1, Madrid.
- DODGE, J. D. 1989. Some revisions of the Family Gonyaulacaceae (Dinophyceae) based on a scanning electron microscope study. *Bot. Mar.* 32: 275-298.
- DRAISCI, R., E. FERRETTI, L. PALLESCHI, C. MARCHIAFAVA, R. POLETTI, A. MILANDRI, A. CEREDI & M. POMPEI. 1999. High levels of yessotoxin on mussels and presence of yessotoxin and homoyessotoxin in dinoflagellates of the Adriatic Sea. *Toxicon* 37: 1187-1193.
- ELLEGAARD, M., N. DAUGBJERG, A. ROCHON, J. LEWIS & I. HARDING. 2003. Morphological and LSU rDNA sequence variation within the *Gonyaulax spinifera*-*Spiniferites* group (Dinophyceae) and proposal of *G. elongata* comb. nov. and *G. membranacea* comb. nov. *Phycologia* 42: 151-164.
- FRITZ, L. & R. E. TRIEMER. 1985. A rapid simple technique utilizing Calcofluor white M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. *J. Phycol.* 21: 662-664.
- FUKUYO, Y., Y. SAKO, K. MATSUOKA, I. IMAI, M. TAKAHASHI & M. WATANABE. 2003. Biological character of red-tide organisms. In: OKAICHI, T. (ed.), *Red Tides*, pp. 61-153. Terra Scientific Publishing Company, Tokyo.
- GÁRATE-LIZÁRRAGA, I., M.D.S. MUÑETON-GÓMEZ, B. PÉREZ-CRUZ & J.A. DÍAZ-ORTIZ. 2014. Bloom of *Gonyaulax spinifera* (Dinophyceae: Gonyaulacales) in Ensenada de La Paz lagoon, Gulf of California. *CICIMAR Oceanides* 29: 11-18.
- GAZZETTA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA. 2002. No. 165. Italian Ministry Decree (Decreto Ministeriale) dated May 16, 2002: 16-19.
- GRAHAM, L. E. & L. W. WILCOX. 2000. *Algae*. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New York.
- HANSEN, G., O. MOESTRUP & K. R. ROBERTS. 1996/1997. Light and electron microscopical observations on *Protoceratium reticulatum* (Dinophyceae). *Arch. Protistenk.* 147: 381-391.
- HOUGHTON, C., M. P. HERNANDO, G. MALANGA, B. KROCK & U. TILLMANN. 2016. Temperature effects on growth, yessotoxin content, and oxidative stress of *Protoceratium reticulatum* from Argentina (South Atlantic Ocean). The 17th International Conference on Harmful Algae Abstract book, Florianópolis, Brasil, p. 116.
- ICES. 2006. Report on the ICES/IOC workshop on new and classic techniques for the determination of numerical abundance and biovolume of HAB species – evaluation of the cost, time-efficiency and intercalibration methods (WKNCT), 22-27 August 2005, Kristineberg, Sweden. ICES CM 2005/C: 10.
- KONISHI, M., X. YANG, B. LI, C. R. FAIRCHILD & Y. SHIMIZU. 2004. Highly cytotoxic metabolites from the culture supernatant of the temperate dinoflagellate *Protoceratium cf. reticulatum*. *J. Nat. Prod.* 67: 1309-1313.

- KROCK B., U. TILLMANN, U. JOHN & A. D. CEMBELLA. 2008. LC-MS-MS aboard ship: tandem mass spectrometry in the search for phycotoxins and novel toxigenic plankton from the North Sea. *Anal. Bioanal. Chem.* 392: 797-803.
- KROCK, B., C. G. SEGUEL, K. VALDERRAMA & U. TILLMANN. 2009. Pectenotoxins and yessotoxin from Arica Bay, North Chile as determined by tandem mass spectrometry. *Toxicon* 54: 364-367.
- LASSUS, P., N. CHOMÉRAT, P. HESS & E. NÉZAN. 2016. *Toxic and harmful microalgae of the World Ocean*. IOC Manuals and Guides 68, International Society for the Study of Harmful Algae (ISSHA) / Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO (IOC), Copenhagen.
- LEGRESLEY, M. & G. MCDERMOTT. 2010. Counting chamber methods for quantitative phytoplankton analysis-hemocytometer, Palmer-Maloney cell and Sedgewick-Rafter cell. In: KARLSON, B., C. CUSACK & E. BRESNAN (eds.), *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*, pp. 25-30. IOC Manual and Guides 55, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris.
- LEWIS, J., A. ROCHON & I. HARDING. 1999. Preliminary observations of cyst-theca relationships in *Spiniferites ramosus* and *Spiniferites membranaceus* (Dinophyceae). *Grana* 38: 113-124.
- MACKENZIE, L., P. TRUMAN, M. SATAKE, T. YASUMOTO, J. ADAMSON, D. MOUNTFORT & D. WHITE. 1998. Dinoflagellate blooms and associated DSP toxicity in shellfish in New Zealand. In: REGUERA, B., J. BLANCO, M. L. FERNÁNDEZ & T. WYATT (eds.), *Harmful Microalgae*, pp. 74-77. Xunta de Galicia and IOC of UNESCO, Santiago de Compostela.
- MARGALEF, R. 1956. Estructura y dinámica de la "purga de mar" en la Ría de Vigo. *Investigación Pesquera* 5: 113-134.
- MILES, C. O., I. A. SAMDAL, J. A. B. AASEN, D. J. JENSEN, M. A. QUILLIAM, D. PETERSEN, L. M. BRIGGS, A. L. WILKINS, F. RISE, J. M. COONEY & A. L. MACKENZIE. 2005. Evidence for numerous analogs of yessotoxin in *Protoceratium reticulatum*. *Harmful Algae* 4: 1075-1091.
- MUNDAY, R., T. AUNE & G. P. ROSSINI. 2008. Toxicology of the yessotoxins. In: BOTANA, L. M. (ed.), *Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology and Detection, second ed.*, pp. 329-339. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- PAZ, B., P. RIOBÓ, M. L. FERNÁNDEZ, S. FRAGA & J. M. FRANCO. 2004. Production and release of yessotoxins by the dinoflagellates *Protoceratium reticulatum* and *Lingulodinium polyedrum* in culture. *Toxicon* 44: 251-258.
- PAZ, B., P. RIOBÓ, I. RAMILO & J. M. FRANCO. 2007. Yessotoxins profile in strains of *Protoceratium reticulatum* from Spain and USA. *Toxicon* 50: 1-17.
- PAZ, B., J. BLANCO & J. M. FRANCO. 2013. Yessotoxins production during the culture of *Protoceratium reticulatum* strains isolated from Galician Rias Baixas (NW Spain). *Harmful Algae* 21-22: 13-19.
- PRASENO, D. P., Y. FUKUYO, R. WIDIARTI, Y. E. BADRUDIN & S. S. PAIN, 1999. The HAB/red tide blooms in Indonesian waters 1997/1998. In: *Proceedings of the Fourth ASEAN-Canada Technical Conference on Marine Sciences*, pp. 432-437. Malaysia.
- RHODES, L. L., P. MCNABB, M. DE SALAS, L. BRIGGS, V. BEUZENBERG & M. GLADSTONE. 2006. Yessotoxin production by *Gonyaulax spinifera*. *Harmful Algae* 5: 148-155.
- RIAUX-GOBIN, C. & P. LASSUS. 1989. Conditions hydroclimatiques d'une eau colorée à *Gonyaulax spinifera* (dinoflagellé) dans une ria du Nord-Finistère. *Bot. Mar.* 32: 491-498.
- RICCARDI, M., F. GUERRINI, F. RONCARATI, A. MILANDRI, M. CANGINI, S. PIGOZZI, E., RICCARDI, A. CEREDI, P. CIMINIELLO, C. DELL'AVERSANO, E. FATTORUSSO, M., FORINO, L. TARTAGLIONE & R. PISTOCCHI. 2009. *Gonyaulax spinifera* from the Adriatic Sea: toxin production and phylogenetic analysis. *Harmful Algae* 8: 279-290.
- SATAKE, M., L. MACKENZIE & T. YASUMOTO. 1997. Identification of *Protoceratium reticulatum* as the biogenic origin of yessotoxin. *Nat. Toxicol.* 5: 164-167.
- SEGUEL, M., M. A., TOCORNAL & A. SFEIR. 2005. Floraciones algales nocivas en los canales y fiordos del sur de Chile. *Cienc. Tecnol. Mar.* 28: 5-13.
- STEIDINGER, K. & K. TANGEN. 1997. Dinoflagellates. In: TOMAS, C. R. (ed.), *Identifying Marine Phytoplankton*, pp. 387-584. Academic Press, San Diego.
- TERAO, K., E. ITO, M. OARADA, M. MURATA & T. YASUMOTO. 1990. Histopathological studies on experimental marine toxin poisoning-5. The effects on mice of yessotoxin isolated from *Patinopecten yessoensis* and of a desulfated derivative. *Toxicon* 28: 1095-1104.
- TUBARO, A., L. SIDARI, R. DELLA-LOGGIA & T. YASUMOTO. 1998. Occurrence of yessotoxin-like toxins in phytoplankton and mussels from Northern Adriatic Sea. In: REGUERA, B., J. BLANCO, M. L. FERNÁNDEZ, & T. WYATT (eds.), *Harmful Algae*, pp. 470-472. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.* 9: 1-38.

Recibido el 13 de agosto de 2018, aceptado el 26 de octubre de 2018. Editora: Eugenia Alicia Sar.

ANÁLISIS DE LA DISTRIBUCIÓN Y DENSIDAD ESTOMÁTICA EN *TRICHLORIS* (CHLORIDOIDEAE, POACEAE), BAJO DIFERENTES REGÍMENES HÍDRICOS

MARÍA A. TROD^{1,2,*}, PABLO A. TOMAS¹, GERARDO D. L. CERVIGNI², JUAN M. ZABALA¹, LORENA D. R. MARINONI^{1,2} y JULIO A. GIAVEDONI¹

Summary: Analysis of distribution and stomatal density in *Trichloris* (Chloridoideae, Poaceae), under different water regimes. *Trichloris crinita* and *T. pluriflora* are perennial grasses native from Argentina that have productive potential as forage for arid and semi-arid regions. The objectives of the present work were to analyze in both species the variations in leaf stomatal distribution and density under two different water regimes and their association with rainfall at the place of origin. Six introductions for each species were characterized. Two trials were implemented, one in a humid environment and the other in a dry environment. Measurements of foliar dimensions and stomatal counts in each material for each environment were made. The Principal Component Analysis represented 73.3% of the variation on the first two axes, responding to the effect of the evaluation environment on stomatal parameters and to the differences between species for their foliar dimensions. Significant differences were observed between introductions of *T. crinita* in both environments for most of the variables analyzed. Variations between introductions of *T. pluriflora* were observed only in humid environment. The observed variations correlated with rainfall at the collection site only for *T. crinita*. The variables used here were useful for the characterization of the materials analyzed; their implications for the conservation of this plant genetic resource are discussed.

Key words: Genetics resources, grasses, *Leptochloa*, *Trichloris crinita*, *Trichloris pluriflora*, stomatal density.

Resumen: *Trichloris crinita* y *T. pluriflora* son gramíneas perennes nativas de Argentina que presentan potencialidad productiva como forrajeras para regiones áridas y semiáridas. Los objetivos del presente trabajo fueron analizar para ambas especies las variaciones en la distribución y densidad estomática foliar ante dos regímenes hídricos diferentes y su asociación con las precipitaciones en el lugar de origen. Se caracterizaron seis introducciones para cada especie, implantando dos ensayos, uno en ambiente húmedo y otro en ambiente seco, realizándose mediciones de dimensiones foliares y recuentos estomáticos en cada material para cada ambiente. El Análisis de Componentes Principales representó el 73,3% de la variación sobre los dos primeros ejes, respondiendo al efecto del ambiente de evaluación sobre los parámetros estomáticos y a las diferencias entre especies para las dimensiones foliares. Para *T. crinita* se observaron diferencias significativas entre introducciones para la mayoría de las variables analizadas en ambos ambientes. Para *T. pluriflora*, las variaciones entre las introducciones fueron evidentes solamente en el ambiente húmedo. Las variaciones observadas presentaron correlación con las precipitaciones en el sitio de colecta únicamente para *T. crinita*. Las variables aquí empleadas resultaron de utilidad para la caracterización de los materiales analizados; se discute su implicancia para la conservación del recurso fitogenético.

Palabras clave: Densidad estomática, gramíneas, *Leptochloa*, recursos genéticos, *Trichloris crinita*, *Trichloris pluriflora*.

¹ Cátedra de Genética y Mejoramiento Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, RP Luis Kreder 2805, 3080 HOF Esperanza, Argentina.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina.

* maria_trod@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el avance de las fronteras productivas hacia áreas no cultivadas ha sido una de las principales causas de la erosión genética de los pastizales naturales (FAO, 2008; Henwood, 2010; Carbutt *et al.*, 2017). Frente a este escenario, la conservación de la variabilidad de genotipos locales adaptados a diversos ambientes para su aprovechamiento productivo constituye uno de los pilares de la valorización de los recursos fitogenéticos a nivel mundial.

Entre las especies nativas de Argentina con mayor potencial productivo para regiones áridas y semiáridas con clima subtropical se encuentran *Trichloris crinita* (Lag.) Parodi y *T. pluriflora* E. Fourn. (Chloridoideae, Poaceae). Mientras que a *T. crinita* se la encuentra desde las provincias de Neuquén y Río Negro hasta el Norte del país, abarcando las provincias fitogeográficas del Monte y Chaqueña (Zuloaga *et al.*, 1994), *T. pluriflora* presenta una distribución restringida al Chaco Húmedo (Marinoni *et al.*, 2015). Ambas especies son C4, perennes, de reproducción sexual y autógama (Gutierrez *et al.*, 2016; Kozub *et al.*, 2017) y han sido estudiadas como potencial recurso forrajero debido a la diversidad de ambientes marginales donde se las encuentra y a su tolerancia a factores abióticos como sequía y salinidad (Passera *et al.*, 1997; Greco & Cavagnaro, 2003). Si bien recientemente estas especies han sido incluidas dentro del género *Leptochloa* como *Leptochloa crinita* (Lag.) P.M. Peterson & N.W. Snow y *Leptochloa pluriflora* (E. Fourn.) P.M. Peterson & N.W. Snow (aceptados por Flora Argentina, <http://www.floraargentina.edu.ar>) en base a un estudio de filogenia molecular (Peterson *et al.*, 2015), en el presente trabajo se mantiene el género *Trichloris*, por tratarse de una caracterización a nivel inter e intraespecífico de las únicas dos especies de este género y porque en estudios de índole agronómica son los nombres científicos comúnmente utilizados.

Una de las consecuencias primarias del estrés hídrico en la planta es la reducción de la actividad fotosintética debido a efectos estomáticos, los cuales consisten en la reducción del intercambio gaseoso y están directamente relacionados con el potencial hídrico foliar (Kaiser, 1987; Baruch & Fernández, 1993). Las especies tolerantes son capaces de soportar potenciales hídricos más bajos, lo que les permite sostener la actividad fotosintética

y alcanzar mayores tasas de crecimiento relativo en condiciones de estrés (Ludlow & Ng, 1976; Xu & Zhou, 2008). Esa tolerancia a estrés hídrico en ecotipos vegetales provenientes de ambientes restrictivos es el resultado de adaptaciones fisiológicas, morfológicas y anatómicas en los individuos, las que han sido evolutivamente seleccionadas para hacer más eficiente el uso del agua (De Micco & Aronne, 2012; Ashraf & Harris, 2013). Dimensiones foliares reducidas y cambios en la densidad y distribución de estomas en la epidermis foliar constituyen aspectos relacionados con la adaptación a una baja disponibilidad hídrica durante el período de crecimiento (Redmann, 1985; Hong *et al.*, 2000; Villagra *et al.*, 2011; González Medrano, 2012). Además, esos caracteres pueden variar en diferente medida entre años en función de las condiciones ambientales, lo que confiere plasticidad adaptativa en ambientes cambiantes y áreas de transición (Sharma, 1972; Barboza *et al.*, 2006; Fraser *et al.*, 2009; Muir, 2015). Greco & Cavagnaro (2003), han reportado para *T. crinita* la capacidad de resistir muy bajos potenciales hídricos en la hoja antes de verse afectado el crecimiento, aunque se desconocen los mecanismos y adaptaciones involucradas. La amplia distribución geográfica tanto de *T. crinita* como de *T. pluriflora* sugiere que ambas especies presentan mecanismos que le permiten adaptarse a las diferentes condiciones hídricas de los ambientes donde vegetan. Asimismo, la diversidad y plasticidad para parámetros foliares y estomáticos propios de cada procedencia podría tener relación con las diferentes condiciones hídricas de los sitios de origen.

Los objetivos del presente trabajo fueron analizar la distribución y densidad estomática en láminas foliares, sus variaciones ante diferentes condiciones ambientales y su asociación con las precipitaciones en el lugar de origen para materiales de *Trichloris* procedentes de ambientes contrastantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se caracterizaron seis introducciones de *T. crinita* y seis de *T. pluriflora* procedentes de diferentes regiones de Argentina, facilitadas por el Banco de Germoplasma del Programa de Documentación, Conservación y Valoración de la Flora Nativa

(ProDoCoVa) de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral (Tabla 1). Las semillas se pusieron a germinar en macetas con tierra y arena, en partes iguales y posteriormente llevadas a campo en noviembre de 2013. Los ensayos se implantaron en dos ambientes, denominados Esperanza (ambiente húmedo) y Catamarca (ambiente seco), localizado el primero en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNL (Esperanza, Santa Fe; 31°27'02" S, 60°55'56" O) y el segundo en la Estación Experimental INTA Catamarca (28°28'19" S, 65°43'55" O), representando ambientes contrastantes en cuanto a registros de precipitaciones y temperaturas durante la temporada de crecimiento (Fig. 1). En ambos sitios los genotipos se ubicaron en un diseño completamente aleatorizado con 5 repeticiones por introducción, considerando a cada individuo como una repetición. Para evitar el efecto del trasplante, las determinaciones se realizaron en la segunda temporada de crecimiento a campo.

Determinación de variables

En el mes de febrero de 2015, al inicio de la etapa reproductiva, se tomó como muestra la lámina foliar completamente expandida e inmediata

inferior a la hoja bandera de cinco macollos por genotipo. Las muestras fueron fijadas y preservadas en FAA 18:1:1 (etanol: ác. acético: formol) hasta su análisis.

Mediante medición directa se determinó el Ancho de Lámina (AL) en milímetros para la región central de la hoja muestreada. Los recuentos estomáticos se realizaron sobre secciones de láminas foliares tratadas mediante la técnica de Metcalfe modificada (Zarlavsky, 2014), utilizando un microscopio óptico Olympus CH30 de campo claro, objetivo de 40X y ocular graduado. Se realizaron recuentos en al menos 10 campos al azar para cada muestra en la región central de la lámina y se determinaron las siguientes variables:

- Estomas por milímetro lineal de región intercostal en la epidermis abaxial (ELAB)
- Estomas por milímetro lineal de región intercostal en la epidermis adaxial (ELAD)
- Estomas por mm² en la epidermis abaxial (ESAB)
- Estomas por mm² en la epidermis adaxial (ESAD)
- Porcentaje de estomas mm² en la epidermis adaxial/estomas mm² de lámina (%AD).

Considerando que los estomas en *Trichloris sp.* se ubican en forma lineal en la región intercostal

Tabla 1. Detalle de las introducciones incluidas en este estudio y parámetros geográficos y ambientales de su respectivo lugar de origen, proporcionados por ProDoCoVa.

Especie	Introducción	Provincia	Coordenadas geográficas		Altitud (msnm)	Precipitaciones (mm anuales)
			Latitud (S)	Longitud (O)		
<i>Trichloris crinita</i>	7320	Mendoza	-34,7721	-68,6117	1209	314
	7390	San Juan	-31,7254	-67,8462	639	180
	7602	Córdoba	-29,8500	-64,6697	191	516
	8492	Formosa	-25,1180	-59,9786	116	930
	8608	Santa Fe	-28,7011	-60,0799	62	1142
	9550	San Luis	-26,8684	-66,3150	399	446
	7000	Salta	-25,2169	-64,9295	681	648
	7491	Catamarca	-28,6953	-65,8365	412	390
<i>Trichloris pluriflora</i>	7958	San Luis	-32,3616	-66,1140	604	505
	7967	San Luis	-32,1974	-65,6832	478	542
	8419	Sgo, del Estero	-28,5544	-61,8046	82	851
	8466	Chaco	-26,5842	-60,6222	103	975

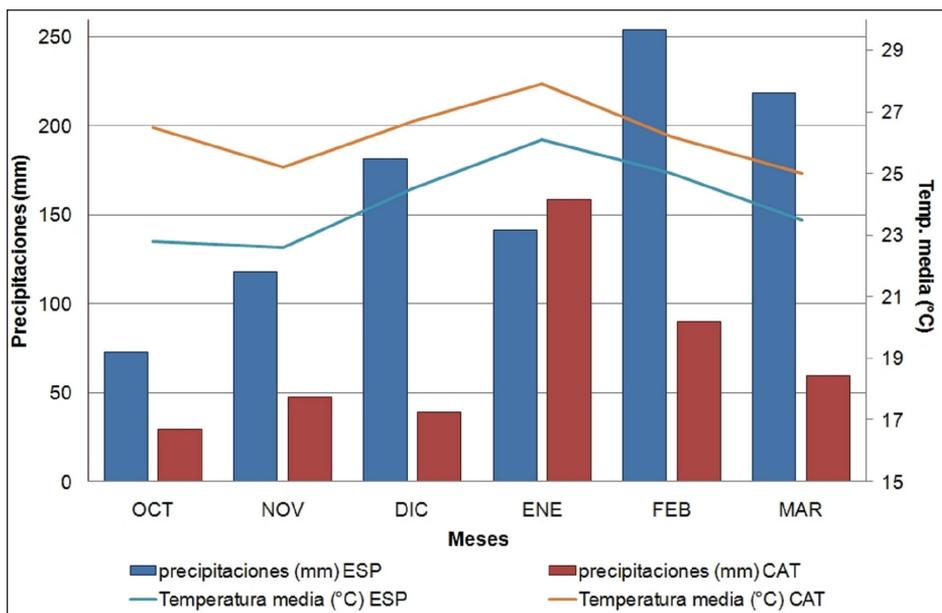


Fig. 1. Registros de temperatura media diaria y precipitaciones mensuales durante el período de evaluación (Octubre 2014 - Marzo 2015) en los dos ambientes de emplazamiento de los ensayos (ESP: Esperanza; CAT: Catamarca).

de ambas epidermis foliares (Gil *et al.*, 1992), se registró además el número de regiones intercostales en la sección transversal de la lámina analizada, para luego estimar la densidad de esas regiones intercostales en el ancho de lámina (DRI, mm^{-1}), estimada como el cociente entre el número de regiones y el ancho de lámina.

Análisis estadístico

Con el conjunto de variables analizadas se confeccionó una matriz de datos y se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para determinar la existencia de posibles patrones de variación y relaciones entre y dentro de las especies frente a las condiciones de evaluación. Para la representación gráfica se estimó el Coeficiente de Correlación Cofenético (CCC), a modo de inferir el grado de distorsión producto del análisis a partir de la matriz original de datos.

Se realizó un análisis estadístico utilizando el test t-Student para muestras apareadas ($p < 0,05$), para la comparación de promedios a tres niveles de análisis: entre especies en general, entre especies dentro de cada ambiente y entre ambientes dentro de cada especie.

Posteriormente, para cada especie por separado

se analizaron estadísticamente las diferencias entre introducciones dentro de cada ambiente mediante análisis de la varianza (ANVA), previo análisis de normalidad y homogeneidad de varianzas, y las medias fueron comparadas mediante el test de Tukey ($p < 0,05$). Para aquellas variables que no presentaron distribución normal, se realizó un análisis estadístico no paramétrico mediante Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Finalmente, se determinó la correlación entre los valores determinados para las variables analizadas y las precipitaciones promedio anuales en los sitios de origen respectivos mediante el coeficiente Pearson, analizando por especie tanto en general como dentro de cada ambiente de evaluación. Todos los análisis se realizaron utilizando el software estadístico Infostat 2018 (Di Rienzo *et al.*, 2018).

RESULTADOS

En el análisis de componentes principales los dos primeros ejes explicaron el 73,7% de la variabilidad registrada para ambas especies de *Trichloris*. Sobre la CP1 (58,1% de la variación) se observó una dispersión relacionada con el ambiente

de evaluación (Fig. 2). Los registros obtenidos en Catamarca se ubicaron sobre los cuadrantes de la izquierda y los registros obtenidos en Esperanza sobre los cuadrantes de la derecha, resultando de mayor relevancia las variables de densidad estomática en función de sus autovectores sobre esta componente (Tabla 2). Por otro lado, sobre la CP2 (15,6% de la variación) la diferenciación fue mayormente entre especies, ubicándose *T. pluriflora* en los cuadrantes superiores y *T. crinita* en los cuadrantes inferiores, principalmente en función del peso de AL y DRI sobre dicha componente. En la representación gráfica, la introducción 7602 en Catamarca se localizó muy distante del resto de los materiales analizados, constituyendo el principal elemento que define la proporción de la variación que es explicada por la CP1 (Fig. 2).

Tanto los resultados de los análisis estadísticos entre especies a nivel general, como los obtenidos entre especies por ambiente y por especie entre ambientes, coincidieron con los resultados presentados en el biplot del ACP. Para el conjunto de datos, las diferencias significativas entre *T. crinita* y *T. pluriflora* se registraron para las variables AL, DRI y ELAB (Tabla 3). En general, las varianzas por especie para el conjunto de datos y dentro de cada ambiente, fueron mayores para *T.*

crinita, en coincidencia con la dispersión observada para esta especie en el ACP.

Al considerar por ambiente, para Catamarca se observaron diferencias significativas entre especies solamente para las variables AL y DRI. En Esperanza, además de esas dos variables, se observaron diferencias significativas entre especies para ELAB y ELAD. Al particionar por especie se observó una situación contrapuesta a la partición por ambiente, dado que la mayoría de las variables analizadas presentaron para ambas especies diferencias significativas entre ambientes, con excepción de AL y ELAB (Tabla 3).

Analizando cada especie por separado, resultó significativa la interacción “Introducción x Ambiente”, por lo que el análisis de varianza se realizó para cada especie particionando por ambiente. Para *T. crinita* en Catamarca se observaron diferencias estadísticas significativas entre introducciones para todas las variables analizadas. Las introducciones 8492 y 8608 registraron los mayores valores para todos los parámetros, mientras que la introducción 7602 presentó los menores registros (Tabla 4). Para esta misma especie en Esperanza, se observaron diferencias significativas entre introducciones para la mayoría de las variables analizadas, con excepción de ELAB y %AD. Al igual que en

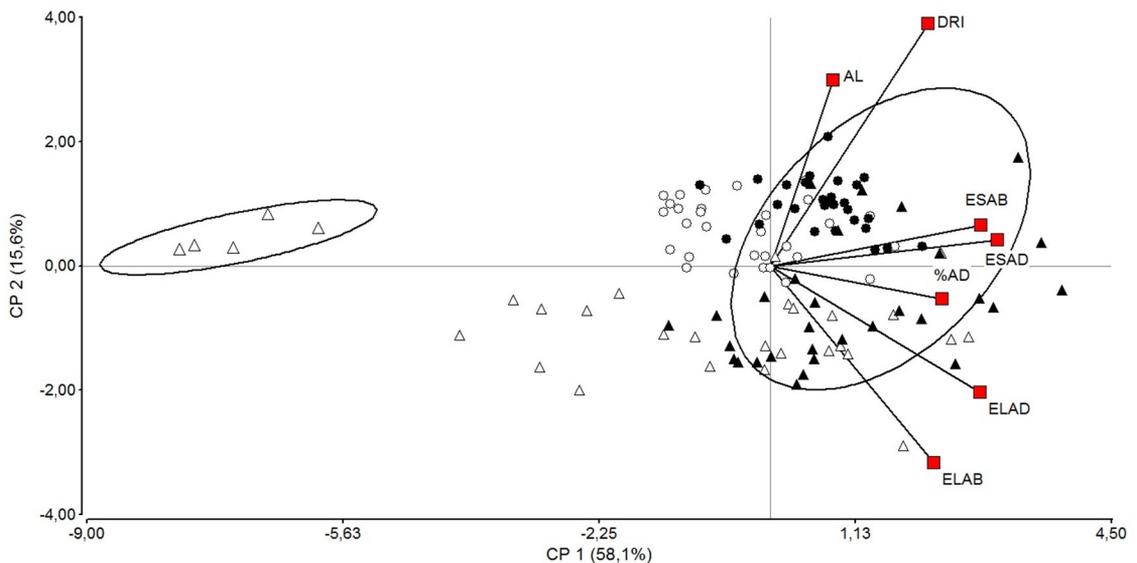


Fig. 2. Biplot del Análisis de Componentes Principales para los dos primeros ejes. Δ : *T. crinita* en Catamarca. \blacktriangle : *T. crinita* en Esperanza. \circ : *T. pluriflora* en Catamarca. \bullet : *T. pluriflora* en Esperanza. Las elipses de confianza (95%) corresponden a la introducción 7602 en Catamarca (izq.) y Esperanza (der.). CCC: 0,945.

Tabla 2. Autovectores de las variables analizadas para las dos primeras componentes principales. Valores destacados indican los coeficientes de mayor peso en cada componente.

Autovectores		
Variables	CP1	CP2
AL	0,13	0,48
ELAB	0,34	-0,51
ELAD	0,44	-0,33
ESAB	0,44	0,1
ESAD	0,48	0,007
DRI	0,33	0,62
%AD	0,36	-0,09

Catamarca, las introducciones 8492 y 8608 se ubicaron entre los mayores registros. Para la introducción 7602 observó un comportamiento particular: si bien presentó los menores valores de densidad estomática lineal en la superficie adaxial, registró el mayor valor de DRI, lo que incrementó significativamente su densidad estomática por unidad de superficie (ESAD y ESAB), al tiempo que, a diferencia del resto de los materiales analizados, presentó menores valores de AL que en Catamarca (Tabla 4).

Para *T. pluriflora* en Catamarca, la única variable que presentó diferencias significativas fue %AD, registrando los menores valores la introducción 7000 y los mayores valores la 7491 (Tabla 5). En Esperanza, las variables que presentaron diferencias estadísticas significativas entre materiales

Tabla 3. Valores de medias, varianzas y análisis estadístico con nivel de significancia entre especies a nivel general, entre especies particionando por ambiente y entre ambientes particionando por especie.

Variable	Ambiente/Especie	<i>T. crinita</i>		<i>T. pluriflora</i>		p-valor
		Media	Varianza	Media	Varianza	
AL	General	5	3,3	10,2	2,7	<0,0001
	Catamarca	4,8	2	10,1	3,6	<0,0001
	Esperanza	5,2	4,6	10,3	1,9	<0,0001
	p-valor	0,398		0,6403		
DRI	General	2,8	0,5	3,3	0,1	0,0001
	Catamarca	2,5	0,3	3,1	0,1	<0,0001
	Esperanza	3,2	0,6	3,5	0,1	0,0354
	p-valor	0,0003		<0,0001		
ELAD	General	31,3	105,4	31,1	13,1	0,8921
	Catamarca	27,3	162,4	30,1	14,3	0,2544
	Esperanza	35,3	18,6	32,2	9,9	0,0022
	p-valor	0,0023		0,026		
ELAB	General	42	93,3	38,2	23,2	0,0077
	Catamarca	39,9	123,1	37,8	27,6	0,3495
	Esperanza	44,1	57,5	38,6	19,2	0,0013
	p-valor	0,0918		0,5047		
ESAD	General	183,9	5934,9	186,9	1077,2	0,7839
	Catamarca	145,1	6392,4	166,9	841,5	0,169
	Esperanza	222,8	2562,5	207,6	485,6	0,1421
	p-valor	<0,0001		<0,0001		
ESAB	General	243,2	7810	250	1405,5	0,5845
	Catamarca	207,6	7858,5	231,3	1114,8	0,1797
	Esperanza	278,8	5406,7	269,46	988	0,5256
	p-valor	0,0013		<0,0001		
%AD	General	41,1	83,6	42,7	5,9	0,2111
	Catamarca	37,6	131	41,8	4,8	0,054
	Esperanza	44,7	12,8	43,5	5,7	0,1527
	p-valor	0,0025		0,0053		

Tabla 4. Análisis de varianza para los parámetros estomáticos en las introducciones de *T. crinita* en cada ambiente de evaluación. Se indica con * las variables analizadas mediante test no paramétricos (Kruskal-Wallis). Valores con letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Ambiente	Accesión	AL (mm)	DRI (mm ⁻¹)	ELAD* (estomas/mm)	ELAB* (estomas/mm)	ESAD* (estomas/mm ²)	ESAB (estomas/mm)	%AD*
Catamarca	7320	3,6 b	2,4 bc	31,4 a	34,8 bc	154,0 a	166,2 cd	46,2 a
	7390	4,8 ab	2,6 ac	30,9 a	39,8 ab	166,3 a	212,8 bc	43,2 a
	7602	3,2 b	2,0 c	3,8 b	22,4 c	15,7 b	88,8 d	14,4 b
	8492	6,2 a	3,2 a	33,4 a	49,3 a	213,8 a	316,5 a	40,4 a
	8608	6,0 ab	2,8 ab	33,6 a	48,8 a	190,5 a	274,5 ab	40,6 a
	9550	5,0 ab	2,1 bc	30,6 a	44,2 ab	130,3 ab	186,9 bd	40,6 a
Esperanza	7320	4,0 cd	2,7 c	32,9 ab	40	177,0 c	213,5 b	45,2
	7390	6,4 ab	2,6 c	37,8 ab	41,9	192,8 bc	213,5 b	47,4
	7602	2,0 d	4,1 a	31,2 b	39,2	254,3 ab	319,2 a	44,2
	8492	7,2 a	3,4 ac	35,2 ab	49,8	240,3 ac	337,6 a	42,2
	8608	7,0 a	3,6 ab	38,9 a	50,3	277,6 a	357,3 a	43,6
	8550	4,6 bc	2,7 c	36,0 ab	43,4	194,5 bc	232,1 b	45,6

fueron ELAD, ELAB, ESAB y % AD, siendo la introducción 7958 la que presentó mayor densidad estomática por mm lineal en ambas caras de la hoja y por unidad de superficie en la cara abaxial. Para %AD, al contrario de lo observado en Catamarca, la introducción 7000 fue la que presentó mayor

proporción de estomas en la epidermis adaxial de la lámina, principalmente por su mayor valor de ESAD en este ambiente (Tabla 5).

En el análisis de correlación entre los valores registrados y las precipitaciones en el sitio de origen, para *T. crinita* se observó que la gran

Tabla 5. Análisis de varianza para los parámetros estomáticos en las introducciones de *T. pluriflora* en cada ambiente de evaluación. Valores con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0,05$).

Ambiente	Accesión	AL (mm)	DRI (mm ⁻¹)	ELAD (estomas/mm)	ELAB (estomas/mm)	ESAD (estomas/mm ²)	ESAB (estomas/mm ²)	%AD
Catamarca	7000	11,4	2,9	29,8	42,9	157	246,7	0,39 c
	7491	9,8	3,3	31,6	36,2	189,1	238,3	0,44 a
	7958	9,2	3,2	30,7	37,8	171,4	234,7	0,42 ab
	7967	8,6	3,2	28,8	33,7	163,1	214,4	0,43 ab
	8419	10	2,9	29,7	37,2	153,5	214,9	0,42 ab
	8466	11,4	3,1	29,7	38,8	167,2	238,5	0,41 ab
Esperanza	7000	10,6	3,4	33,5 ab	37,8 ab	222,8	259,5 ab	0,46 a
	7491	10,2	3,4	31,6 ab	34,7 b	194,9	234,8 b	0,45 ab
	7958	10,4	3,5	35,2 a	44,2 a	223,7	305,7 a	0,42 b
	7967	9,8	3,6	28,9 b	36,7 b	192,7	267,3 ab	0,42 b
	8419	10,2	3,6	31,7 ab	39,1 ab	208,3	278,9 ab	0,43 ab
	8466	10,5	3,5	31,9 ab	39,2 ab	202,2	270,7 ab	0,43 ab

mayoría de las variables presentaron correlación significativa dentro de cada ambiente de evaluación. La variable %AD presentó correlación negativa para ambas especies, aunque solamente en el ambiente Esperanza para *T. crinita*, y únicamente en Catamarca para *T. pluriflora* (Tabla 6). Las correlaciones positivas indicaron un mayor ancho de lámina y densidad estomática en aquellos materiales procedentes de sitios con mayores precipitaciones, mientras que se espera una menor proporción de estomas en la superficie adaxial en aquellas introducciones procedentes de ambiente con mayores precipitaciones, ante determinadas condiciones ambientales según la especie.

DISCUSIÓN

Este estudio demostró la existencia de patrones de variación respecto de parámetros de densidad y distribución estomática en germoplasma nativo de *Trichloris*, presentando diferente relación con el régimen hídrico según el nivel de análisis. En el ACP resultó evidente que el efecto ambiental del sitio de evaluación tiene un importante efecto sobre la gran mayoría de las variables analizadas. Dejando de lado las diferencias entre especies, las variaciones para ancho de la lámina no evidenciaron asociación con el ambiente de evaluación, sugiriendo para este carácter la ausencia de plasticidad fenotípica significativa en respuesta a las condiciones de crecimiento. En el mismo sentido, Greco & Cavagnaro (2003), reportaron que las diferencias de morfología foliar entre diferentes genotipos de *T. crinita* no fueron alteradas al variar las condiciones hídricas en el ambiente de evaluación. Estas observaciones, sumadas a la presencia de correlación positiva entre el ancho de lámina y las precipitaciones anuales del sitio de origen, sugieren que este carácter estaría marcadamente condicionado por el ambiente de procedencia. En general, la disminución de la superficie foliar constituye una estrategia de adaptación al estrés hídrico muy extendida en el reino vegetal. Las hojas estrechas resultan más eficientes en el intercambio de calor y de esta manera favorecen el balance de temperatura en la planta (Redman, 1985). Las especies que se encuentran con mayor frecuencia en ambientes xerófitos normalmente presentan hojas pequeñas y/o enrolladas (Parkhurst, 1978), por lo que esas adaptaciones son consideradas como

Tabla 6. Correlación entre la variación observada y las precipitaciones del lugar de origen de cada introducción. *: $p < 0,05$. **: $p < 0,01$. ns: diferencias no significativas.

Especie	Variables	Ambiente			
		Catamarca		Esperanza	
<i>T. crinita</i>	AL	0,55	**	0,43	*
	RI/AL	0,42	*	0,46	*
	ELAB	0,46	*	0,52	**
	ELAD	0,17	ns	0,21	ns
	ESAB	0,53	**	0,76	**
	ESAD	0,31	*	0,62	**
	%AD	-0,03	ns	-0,39	*
<i>T. pluriflora</i>	AL	0,34	ns	0,06	ns
	RI/AL	-0,26	ns	0,08	ns
	ELAB	0,17	ns	0,14	ns
	ELAD	-0,12	ns	-0,03	ns
	ESAB	-0,04	ns	0,18	ns
	ESAD	-0,25	ns	0,05	ns
	%AD	-0,43	*	-0,17	ns

estrategias adaptativas que adoptan para minimizar el proceso de transpiración (Fahn & Cutler, 1992). Por ello, sería recomendable analizar a futuro en *Trichloris* si la asociación del ancho foliar con las precipitaciones anuales en origen resulta un indicador útil de la tolerancia a estrés hídrico, mediante análisis de parámetros fisiológicos, como la eficiencia fotosintética o el índice de área foliar.

La densidad de regiones intercostales presentó una singular variación y plasticidad, registrando diferencias significativas en todos los niveles de análisis. No existen antecedentes de estudios de variaciones para este carácter ante diferentes condiciones ambientales, aunque para el género *Trichloris* la región intercostal ha sido descrita en función de particularidades anatómicas (Gil *et al.*, 1992; Pérez Cuadra & Cambi, 2010). Si bien para ambas especies los registros de DRI fueron mayores en ambiente húmedo, para *T. pluriflora* se observaron los mayores valores tanto en general como para cada ambiente por separado. Resulta evidente que los valores de DRI y sus variaciones no están asociados al ancho de la lámina, llegando

incluso a variar en forma inversa para la introducción 7602 de *T. crinita*, la cual además constituye un ecotipo morfológicamente muy contrastante al resto de los materiales analizados de la especie (Trod, M.A., com. pers). Para este caso en particular, una posible explicación podría asociarse a una modificación en la intercepción de la radiación ante ausencia de estrés hídrico como mecanismo de compensación, requiriéndose estudios específicos a futuro para verificarlo.

Tanto *T. crinita* como *T. pluriflora* presentan estomas distribuidos en ambas superficies de la lámina, por lo que pueden ser consideradas como especies anfi-estomáticas (Perez Cuadra & Cambi, 2014). En varios estudios se ha demostrado que la distribución y densidad de estomas sobre la superficie foliar están relacionadas con la adaptación al estrés hídrico, la temperatura y exposición foliar (Parkust, 1978; Smith *et al.* 1997, 1998). Además, alteraciones en la densidad estomática mediadas por condiciones experimentales han demostrado que ambas superficies foliares varían en forma independiente (Muir *et al.*, 2015). En este estudio se observaron diferencias entre especies de *Trichloris* para las variables de densidad estomática lineal, tanto en la superficie adaxial (solo en ambiente Esperanza) como en la abaxial (en general y en Esperanza), siendo siempre mayor la densidad en *T. crinita*. Por otro lado, al particionar por especie, en ambas se observaron diferencias significativas entre ambientes solamente para la superficie adaxial. Nuestras observaciones sugieren que existe mayor plasticidad fenotípica para la densidad estomática lineal en la superficie adaxial para ambas especies, siendo dicha plasticidad de mayor magnitud en *T. crinita*.

La información discutida hasta aquí indica que en *Trichloris* la distribución de estomas en la lámina foliar responde a diferentes patrones según la especie: en *T. crinita* se encuentra una menor densidad de regiones intercostales pero con alta densidad estomática lineal, mientras que en *T. pluriflora* se observó lo opuesto, mayor densidad de regiones intercostales pero con baja densidad estomática lineal. De este modo, ambos parámetros se compensan mutuamente. Esto explicaría el por qué, al analizar la densidad estomática por unidad de superficie en ambas caras de la hoja y la proporción de estomas en la superficie adaxial, no se observaron diferencias significativas entre especies, sino que difirieron entre ambientes al particionar

por especie, presentando valores más altos en el ambiente húmedo. Diversos estudios indican que, en especies o ecotipos no adaptados a ambientes secos, la densidad estomática se correlaciona negativamente al someterlos a condiciones de estrés hídrico (Ristic & Cass, 1991; Bastos *et al.*, 1993; Fraser *et al.*, 2009), mientras que, por el contrario, para las especies de ambiente árido la reducción en la densidad estomática representa una adaptación que aumenta la eficiencia del uso del agua (Xu & Zhou, 2008; De Micco & Aronne, 2012; Ashraf & Harris, 2013). Dado que ambas especies de *Trichloris* habitan ambientes con problemas de estrés hídrico, la densidad estomática podría representar un indicador de la eficiencia en el uso del agua para los materiales bajo estudio. Las especies anfiestomáticas presentan estomas en ambas superficies foliares, predominando aquellas con mayor densidad estomática en la superficie abaxial (Bucher *et al.*, 2017). En especies propias de ambientes áridos y semiáridos o de alta irradiancia, la densidad de estomas suele ser similar en ambas superficies foliares respecto de especies que vegetan en ambientes húmedos o sombreados (James & Bell, 2000; Volenikova & Ticha, 2001; Tari 2003; Bucher *et al.*, 2017). En coincidencia con esos estudios, los resultados aquí presentados indican que en ambas especies de *Trichloris* también es menor la proporción de estomas en la superficie adaxial, diferencia que se acentúa ante condiciones de mayor estrés. La distribución de los estomas es un factor determinante de la efectividad del plegamiento foliar para reducir la pérdida de agua por transpiración, lo que define la estrategia ecológica de la especie (Redmann, 1985). Al igual que lo observado para la densidad estomática lineal, las variables de distribución relativa y densidad estomática por unidad de superficie presentaron mayor la plasticidad para la superficie adaxial y, en particular, en *T. crinita*. Dado que *T. crinita* manifiesta plegamiento foliar ante condiciones de estrés hídrico (Greco & Cavagnaro, 2003), las variaciones de densidad y distribución estomática entre materiales y su plasticidad estarían indicando un mayor potencial adaptativo para esta especie, en relación a *T. pluriflora*. Existe también la posibilidad que esta tendencia general del análisis responda a la existencia de mayor variabilidad dentro de la colección de *T. crinita* debido a un muestreo más extenso del área de distribución de la especie y abarcando diferentes regiones

fitogeográficas, a diferencia de *T. pluriflora* cuyas introducciones proceden de ambientes menos diferenciados entre sí.

En la comparación entre introducciones de cada especie, para *T. crinita* se observó un mayor nivel de variación intraespecífico respecto de *T. pluriflora*, en coincidencia con las observaciones antes planteadas. Otros estudios comparativos realizados en *T. crinita* indican que los materiales originarios de sitios con mayor déficit hídrico son menos afectados por condiciones de evaluación en sequía, mostrando mayor producción de biomasa, potencial hídrico de la hoja y aplazamiento de los signos visuales de estrés por sequía (Kozub *et al.*, 2017). Nuestros resultados indican que el ambiente Catamarca permitió visualizar mejor las diferencias entre introducciones y sugieren que los materiales procedentes de ambiente más seco son capaces de variar en mayor medida su densidad estomática, lo que podría trasuntar en una mayor eficiencia en el uso del agua. Aunque estudios en otras especies indican que la densidad estomática no presentó correlación con el área foliar (Fraser *et al.*, 2009), se requieren estudios para analizar en *Trichloris* la asociación entre la densidad estomática y la producción de biomasa en ambiente restrictivo.

Para *T. pluriflora*, las diferencias entre introducciones se observaron en Esperanza, por lo que el ambiente húmedo resultó de mayor relevancia para expresar las variaciones del germoplasma analizado. Se destacó la introducción 7000, que registró elevados niveles de plasticidad entre ambientes de evaluación para la proporción relativa de estomas entre las superficies foliares. Teniendo en cuenta también lo observado para *T. crinita*, el ambiente de evaluación resultó de suma importancia para analizar las diferencias entre los materiales que integran la colección, obteniéndose mejores resultados en sitios que mejor representen al lugar de origen de las introducciones.

Existen numerosos estudios donde se ha determinado la existencia de asociación entre la densidad estomática con factores ambientales del lugar de procedencia. En el caso de las precipitaciones en el sitio de origen, la reducción en la densidad estomática constituiría una adaptación que aumenta la eficiencia del uso del agua (Xu & Zhou, 2008; De Micco & Aronne, 2012; Ashraf & Harris, 2013; Cach-Pérez *et al.*, 2016). Este aspecto ha llevado a que la densidad estomática sea considerada un criterio de selección, la manipulación

genética de la densidad estomática sea un objetivo de mejoramiento actual (Hepworth *et al.*, 2015; Hughes *et al.*, 2017). En este estudio, la correlación entre la mayoría de las variables analizadas y las precipitaciones anuales en el lugar de origen fue significativa para ambos ambientes de evaluación para *T. crinita*. Esto sugiere que, para esa especie, las precipitaciones tienen gran influencia sobre variabilidad genética para la densidad estomática y las dimensiones foliares, como así también sobre su plasticidad. Para *T. pluriflora*, por el contrario, las precipitaciones en el ambiente de procedencia no explicaron el comportamiento de las introducciones analizadas. La correlación negativa en la proporción de estomas en cada superficie foliar respecto de las precipitaciones en origen solo fue relevante en uno de los ambientes de evaluación, diferente para cada especie. El hecho de que en ambiente húmedo presenten mayor proporción de estomas en la superficie adaxial aquellas introducciones de *T. crinita* procedentes de ambiente más seco, indica que dichos materiales presentan mayor plasticidad para el carácter. En forma análoga para *T. pluriflora*, las introducciones procedentes de ambiente húmedo presentarían mayor plasticidad en cuanto a la proporción relativa de la distribución estomática. Estos aspectos podrían ser de relevancia para programas de mejora genética en la especie.

En el presente trabajo se ha analizado la variación en la densidad estomática en respuesta a diferentes condiciones hídricas para dos especies que, actualmente en base a estudios de filogenia molecular, se incluyen dentro del género *Leptochloa*. En el mismo sentido, estudios realizados para *Leptochloa* reportan la ocurrencia de reducción en el número de estomas en condiciones de crecimiento en salinidad (Ola *et al.*, 2012). Por ello, se considera importante realizar a futuro estudios en especies nativas del género, para analizar posibles variaciones de su anatomía foliar frente condiciones ambientales adversas, identificar los mecanismos involucrados en el proceso de adaptación a tales condiciones y determinar su importancia como recursos para ambientes con limitantes productivas y como fuente de variabilidad para la tolerancia estreses abióticos.

Como conclusión, la diversidad analizada ha permitido identificar variables morfológicas de importancia para caracterizar la colección, fundamentalmente en base a su posible relación con estrategias de adaptación a un ambiente restrictivo

y la plasticidad fenotípica manifestada. El ambiente de evaluación resultó un elemento importante a la hora de potenciar la expresión de las diferencias entre especies y entre materiales de cada especie. Las diferencias entre las introducciones permitieron identificar a aquellos fenotipos contrastantes y remarcar la importancia de factores ambientales como las precipitaciones en el lugar de origen para la programación de estrategias de colecta y conservación del recurso fitogenético.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. Emiliano Quiroga por facilitar las instalaciones del INTA Catamarca para la implantación del ensayo y por su colaboración en el mantenimiento del mismo, y a los revisores anónimos por sus contribuciones y sugerencias. Este estudio fue financiado por CAI+D 2011 UNL N° 50120110100234LI.

BIBLIOGRAFÍA

- ASHRAF, M. & P. J. C. HARRIS. 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica* 51: 163-190.
- BARBOZA, S. B. S. C., D. G. RIBEIRO, J. B. TEIXEIRA, T. A. PORTES & L. A. C. SOUZA. 2006. Anatomía foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. *Pesq. Agropec. Bras.* 41: 185-194.
- BARUCH, Z. & D. S. FERNANDEZ. 1993. Water relations of native and introduced C4 grasses in a neotropical savanna. *Oecologia* 96: 179-185.
- BASTOS, E. O., M. PERAZZOLO & J. M. R. BATISTA. 1993. Variação do número de estômatos e micropelos em *Paspalum vaginatum* em relação às condições abióticas numa marisma do estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 6: 105-117.
- BUCHER, S. F., K. AUERSWALD, C. GRÜN-WENZEL, S. I. HIGGINS, J. C. JORGE & C. RÖRMERMANN. 2017. Stomatal traits relate to habitat preferences of herbaceous species in a temperate climate. *Flora* 229: 107-115.
- CACH-PÉREZ, M. J., J. L. ANDRADE, W. CETZALIX & C. REYES-GARCÍA. 2016. Environmental influence on the inter- and intraspecific variation in the density and morphology of stomata and trichomes of epiphytic bromeliads of the Yucatan Peninsula. *Bot. J. Linn. Soc.* 181: 441-458.
- CARBUTT, C., W. HENWOOD & L. GILFEDDER. 2017. Global plight of native temperate grasslands: going, going, gone? *Biodivers. Conserv.* 26: 2911-2932.
- DE MICCO, V. & G. ARONNE. 2012. Morpho-anatomical traits for plant adaptation to drought: from morphological to molecular features. In: AROCA R. (ed.), *Plant Responses to Drought Stress*, pp. 37-61. Springer, Berlin, Heidelberg.
- DI RIENZO, J. A., F. CASANOVES, M. G. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA & C. W. ROBLEDO. 2018. InfoStat, versión 2018. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- FAHN, A. & D. F. CUTLER. 1992. *Encyclopedia of plant anatomy*. Vol XIII: Xerophytes. Berlín, Gebruder Borntraeger.
- FAO. 2008. Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. Argentina. [online]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/Argentina.pdf>. [Acceso: 17/05/18].
- FRASER, L. H., A. GREENALL, C. CARLYLE, R. TURKINGTON & C. R. FRIEDMAN. 2009. Adaptive phenotypic plasticity of *Pseudoroegneria spicata*: response of stomatal density, leaf area and biomass to changes in water supply and increased temperature. *Ann. Bot.* 103: 769-775.
- GIL, P., S. M. PONS & G. M. RUIZ. 1992. Identificación en base a características epidérmicas de especies forrajeras nativas del bosque chaqueño occidental de la provincia de Córdoba. I. Poaceas. *Agriscientia* 9: 31-43.
- GONZALEZ MEDRANO, F. G. 2012. *Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación*. Instituto Nacional de Ecología.
- GRECO, S. A. & J. B. CAVAGNARO. 2003. Effect of drought in biomass production and allocation in three varieties of *Trichloris crinita* (Poaceae) a forage grass from the arid Monte region of Argentina. *Plant Ecol.* 164: 125-135.
- GUTIÉRREZ, H. F., G. A. RICHARD, M. C. CERINO & J. F. PENSIERO. 2016. Sistema reproductivo de *Trichloris* (Poaceae, Chloridoideae, Chlorideae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 51: 111-122.
- HENWOOD, W. 2010. Toward a strategy for the conservation and protection of the world's temperate grasslands. *Great Plains Res.* 20: 121-134.
- HEPWORTH, C., T. DOHENY-ADAMS, L. HUNT, D. D. CAMERON & J. E. GRAY. 2015. Manipulating stomatal density enhances drought tolerance without deleterious effect on nutrient uptake. *New Phytol.* 208: 336-341.
- HONG Z., K. LAKKINENI, Z. ZHANG & D. P. S. VERMA. 2000. Removal of feedback inhibition of 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol.* 122: 1129-1136.
- HUGHES, J., C. HEPWORTH, C. DUTTON, J. A. DUNN, L. HUNT, J. STEPHENS, R. WAUGH, D. CAMERON & J. E. GRAY. 2017. Reducing stomatal density in barley improves drought tolerance without impacting on yield. *Plant physiol.* 174: 776-787.

- JAMES, A. S & D. T. BELL. 2000. Influence of light availability on leaf structure and growth of two *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* provenances. *Tree Physiology* 20: 1007-1018.
- KAISER, W. M. 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71: 142-149.
- KOZUB, P. C., K. BARBOZA, F. GALDEANO, C. L. QUARIN, J. B. CAVAGNARO & P. F. CAVAGNARO. 2017. Reproductive biology of the native forage grass *Trichloris crinita* (Poaceae, Chloridoideae). *Plant Biol.* 19: 444-453.
- LUDLOW, M. M. & T. T. NG. 1976. Effect of water deficit on carbon dioxide exchange and leaf elongation rate of *Panicum maximum* var. *trichoglume*. *Functional Plant Biol.* 3: 401-413.
- MARINONI, L., A. BORTOLUZZI, M. PARRA-QUIJANO, J. M. ZABALA & J. F. PENSIERO. 2015. Evaluation and improvement of the ecogeographical representativeness of a collection of the genus *Trichloris* in Argentina. *Genet. Resour. Crop Evol.* 62: 593-604.
- MUIR, C. D. 2015. Making pore choices repeated regime shifts in stomatal ratio. *Proc. R. Soc. B.* 282: 20151498.
- OLA, H. A. E., E. F. REHAM, S. S. EISA & S. A. HABIB. 2012. Morpho-anatomical changes in salt stressed kallar grass (*Leptochloa fusca* L. Kunth). *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 8: 158-166.
- PARKHUST, D. 1978. The adaptative significance of stomatal occurrence on one or both surfaces of leaves. *J. Ecol.* 66: 367-383.
- PASSERA, C., J. B. CAVAGNARO, J. LEMES & L. ALLEGRETTI. 1997. Gramíneas nativas de zonas áridas, banco de germoplasma y selección de ecotipos en el Monte, Argentina. *Actae Etnobotánica* 92: 181-189.
- PEREZ CUADRA, V. & V. CAMBI. 2010. Anatomía vegetativa comparativa entre Chloridoideae (Poaceae) halófitas de importancia forrajera. *Phyton* 79: 69-76.
- PEREZ CUADRA, V. & V. CAMBI. 2014. Ocurrencia de caracteres anatómicos funcionales foliares y caulinares en 35 especies Xero-halófilas. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 49: 347-359.
- PETERSON, P. M., ROMASCHENKO, K., SNOW, N., & G. JOHNSON. 2012. A molecular phylogeny and classification of *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae: Chlorideae) sensu lato and related genera. *Ann Bot.* 109: 1317-1330.
- REDMANN, R.E. 1985. Adaptation on grasses to water stress-leaf rolling and stomata distribution. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 72: 833-842.
- RISTIC, Z. & D. D. CASS. 1991. Leaf anatomy of *Zea mays* L. in response to water shortage and high temperature: a comparison of drought-resistant and drought-sensitive lines. *Bot. Gaz.* 152: 173-185.
- SHARMA, G. K. 1972. Environmental modifications of leaf epidermis and morphological features in *Verbena canadensis*. *Sout. Nat.* 221-228.
- SMITH, W. K., T. C. VOGELMANN, E. H. DE LUCIA, D. T. BELL & K. A. SHEPHERD. 1997. Leaf form and photosynthesis. *Bioscience* 47: 785-793.
- SMITH, W. K., D. T. BELL & K. A. SHEPHERD. 1998. Associations between leaf structure, orientation and sunlight exposure in five Western Australian communities. *Am. J. Bot.* 85: 56-63.
- TARI, I. 2003. Abaxial and adaxial stomatal density, stomatal conductances and water status of bean primary leaves as affected by paclobutrazol. *Biol. Plant.* 47: 215-220.
- VILLAGRA, P. E., C. GIORDANO, J. A. ALVAREZ, J. B. CAVAGNARO, A. GUEVARA, C. SARTOR, C. PASSERA & S. GRECO. 2011. Ser planta en el desierto: estrategias de uso de agua y resistencia al estrés hídrico en el Monte Central de Argentina. *Ecología austral* 21: 29-42.
- VOLENÍKOVÁ, M. & I. TICHÁ. 2001. Insertion profiles in stomatal density and sizes in *Nicotiniana tabacum* L. plantlets. *Biol. Plant.* 44: 161-165.
- XU, Z. & G. ZHOU. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationships with photosynthesis in a grass. *J. Exp. Bot.* 59: 3317-3325.
- ZARLAVSKY, G. E. 2014. *Histología Vegetal: técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires.
- ZULOAGA, F. O., E. G. NICORA, Z. E. RÚGOLO DE AGRASAR, O. MORRONE, J. F. PENSIERO & A. M. CIALDELLA. 1994. *Catálogo de la familia Poaceae en la República Argentina*. Missouri Botanical Garden. *Monog. Syst. Bot.* 47: 1-178.

Recibido el 18 de junio de 2018, aceptado el 10 de octubre de 2018. Editora: Ana M. Gonzalez.

LA “TÉCNICA DE CLARIFICACIÓN 5-5-5”, UN MÉTODO NATURAL PARA EL TRATAMIENTO DE MATERIAL VEGETAL

ANA M. ARAMBARRI¹

Summary: The “clearing technique 5-5-5”, a natural method for treatment of plant materials. The objective of this paper is to give information on one alternative simple and economic clearing method, without aggressiveness for the material, which may be used for the investigation of different plant organs and tissues. Some years ago, a clearing technique of plant leaves began to test in the Laboratory of Comparative Morphology of Spermatophytes (LAMCE). It was developed in the search for a clearing method that would allow to us to maintain orientation of the material and was less aggressive for the small and delicate materials. As result a natural method with those characteristics was found.

Key words: Botanical technique, transparent plant materials.

Resumen: El objetivo de esta publicación es dar a conocer, como alternativa, una técnica de clarificación, sencilla, económica, sin agresividad para el material vegetal y que puede ser empleada para la investigación de diferentes órganos y tejidos. Hace algunos años, se comenzó a ensayar en el Laboratorio de Morfología Comparada de Espermatófitas (LAMCE), una técnica de diafanización de hojas de plantas. La misma se desarrolló ante la búsqueda de un método de clarificación que permitiera mantener la orientación del material y no fuera tan agresivo para los materiales pequeños y delicados. Como resultado se obtuvo un método natural con las características buscadas.

Palabras clave: Material transparente, técnica botánica.

INTRODUCCIÓN

La hoja es el órgano de las plantas más sensible a los cambios ambientales. El tejido epidérmico es de interés en el campo de las plantas medicinales, en especial en la detección y control de calidad farmacobotánica (Altamirano & Yajía, 2017) evitando adulteraciones, para lo cual se requieren herramientas rápidas y prácticas (Gattuso, 2013). Su estudio también es de valor, por ejemplo para el reconocimiento de plantas tóxicas para el ganado (Freire *et al.*, 2005), en la determinación de la composición botánica de la dieta de herbívoros (Yagueddú & Cid, 1992; Castellaro *et al.*, 2007); Borelli & Pelliza de Sbriller, 2014); en estudios de contenido estomacal resistente al proceso digestivo (Cid & Sierra, 2004), en estudios de

taxonomía (e. g. utilizando los índices estomático y piloso), ecofisiológicos utilizando densidad y tamaño de estomas-ostíolo e incluso en trabajos destinados a la conservación de especies.

La diafanización u obtención de material transparente (clarificación), es una técnica que permite estudiar el tejido epidérmico y observar características de los tejidos internos, por ejemplo características celulares del parénquima, las venas y vénulas (haces vasculares), aréolas, tamaño de espacios intercelulares, presencia y tipos de esclereidas, presencia de estructuras de secreción como tubos laticíferos e inclusiones celulares como los cristales. Además una buena clarificación es una herramienta rápida que le permite al investigador formar una imagen tridimensional del órgano.

¹ Laboratorio de Morfología Comparada de Espermatófitas (LAMCE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Avda. 60 y 119, C.C. 31 (1900) La Plata, Argentina. Te. 54-0221-423-6758 ext. 461. anaramba@yahoo.com.ar; arambarri@agro.unlp.edu.ar

Algunos de los numerosos protocolos que existen para la clarificación de materiales son: Johansen (1940), Foster (1949), Payne (1969), Herr, Jr. (1971), Dizeo de Strittmatter (1973), Vasco *et al.* (2014). En la mayoría de los métodos utilizan alcohol etílico que elimina la clorofila y otros contenidos celulares facilitando la clarificación; hidróxido de sodio que ablanda e hidrata el material; hipoclorito de sodio que también elimina contenidos celulares y hace transparente el material y el hidrato de cloral que actúa sobre los tejidos dejando translúcida la muestra. A veces, con esta finalidad se emplea el ácido láctico solo o conjuntamente con el hidrato de cloral (Herr, Jr., 1971).

Una de las técnicas de diafanización más utilizadas es la de Dizeo de Strittmatter (1973) con excelentes resultados. Sin embargo, la técnica exige ciertos cuidados durante y luego del proceso de ebullición del material (Zarlavsky, 2014), además si el material vegetal es delicado puede destruirse y no permite mantener orientado el material de estudio. Estos problemas hicieron que, cuando hubo que analizar ambas caras de los pequeños folíolos de segundo orden (foliólulos) de la hoja bipinnada de *Acacia aroma* Hook. & Arn., surgió la idea de ensayar un método con el cual se pudiera mantener la orientación del material a lo largo de todo el proceso y diera un resultado satisfactorio desde el punto de vista de la transparencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales vegetales ensayados

Este método natural se comenzó a utilizar en 2010, desde entonces se ha empleado en el estudio de plantas medicinales, alternando con la técnica de Dizeo de Strittmatter (1973), dependiendo del material, la elección de uno u otro método. Usamos ambas técnicas en los trabajos de especies arbóreas de la región chaqueña (Arambarri *et al.*, 2011, 2012). La técnica de clarificación 5-5-5 permitió diafanizar las hojas de *Celtis ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm. (Nughes *et al.*, 2013; Hernández *et al.*, 2016) y observar tricomas gemelos completos, incluso con su contenido de mucílagos (e. g. *Senecio laetevirens* Phil.), en material de herbario de más de 50 años (comunicación personal M. P. Hernández).

Otros materiales ensayados fueron: hojas de *Capsicum annuum* L., *Eryngium pandanifolium* Cham. & Schltldl., *Hydrocotyle ranunculoides*

L.f., *Ipomoea cairica* (L.) Sweet, *Lactuca sativa* L., *Muehlenbeckia sagittifolia* (Ortega) Meisn., *Passiflora caerulea* L., *Salpichroa organifolia* (Lam.) Thell., *Tropaeolum majus* L.; cladodios (segmentos de tallo) de *Opuntia* spp.; raicillas de *Lycopersicon esculentum* Mill.; flores de *Eupatorium* sp., *Lantana camara* L., *Thunbergia alata* Bojer ex Sims, *Wedelia glauca* (Ortega) O. Hoffm. ex Hicken; frutos (pericarpo) de *Solanum melongena* L.; semillas (episperma) de *Datura ferox* L. y *D. stramonium* L.; fruto y semilla inmaduros de *Wedelia glauca*; explantes de *Prosopis alpacato* Phil. (cultivo *in vitro*).

“Técnica de clarificación 5-5-5”

Tratamiento previo a la clarificación

Si bien generalmente cuando se presenta una técnica no se habla sobre el tratamiento previo del material, es un factor importante para el buen desarrollo de la misma. Se ha observado que los materiales presentan mayor o menor grado de dificultad para su clarificación. Se pueden enumerar los siguientes casos: (1) generalmente el material fresco es más difícil de diafanizar que el material de herbario, aunque en ambos casos depende del órgano y composición química del mismo; (2) el material de herbario requiere hidratación previa; (3) el comportamiento del material es distinto al fijarlo en solución de formalina-ácido acético glacial-alcohol (FAA). En algunos casos sufren al menos cierta decoloración y luego se diafanizan rápidamente. También están aquellos que colocados en FAA mantienen una coloración verde intensa e incluso se oscurecen; estos materiales se clarifican mal o lo hacen lentamente.

Vasco *et al.* (2014) observaron lo mismo en el material conservado en FAA y explicaron que la formalina del FAA puede fijar contenidos celulares (e. g. pigmentos, fenoles), que dificultan la clarificación del material, para reducir ese efecto indicaron dejar el material dos semanas en alcohol 50°. En el presente trabajo se ensayó el tratamiento con alcohol etílico 50° con tres materiales de hojas que estuvieron desde uno hasta 10 años en el líquido fijador y mantuvieron el color verde intenso o se oscurecieron.

Los resultados comparativos entre el tratamiento de clarificación desde el material en FAA y luego del tratamiento durante 15 días en alcohol 50° se presentan en la Tabla 1 y de ello surge la siguiente recomendación:

-Si el material es fresco o de herbario hidratado y se lo va a clarificar dentro de las tres semanas, conviene conservarlo en alcohol 50° por lo menos 15 días y luego iniciar el proceso de clarificación.

-Cuando el material está conservado en FAA y presenta coloración intensa, se recomienda colocarlo 15-20 días en alcohol 50° antes de la clarificación. El material ensayado muestra que el tiempo total de clarificación con el tratamiento con alcohol 50° fue mayor que si no se hace este tratamiento (Tabla 1). Sin embargo, se pueden citar como ventajas: 1) que puede lograrse una mejor clarificación; 2) el material queda expuesto durante menos tiempo a la solución de hidróxido de sodio+hipoclorito de sodio que pueden provocar un excesivo ablandamiento y rotura de sus partes.

Clarificación

Reactivos utilizados:

- Hidróxido de sodio (NaOH) al 5%
- Hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 % y 50%
- Hidrato de cloral (C₂H₃Cl₃O₂) al 5%

Instrumental mínimo

Potes de vidrio con tapa plástica, de 5 cm diámetro y profundidad interna de 3 cm como mínimo (con mayor diámetro facilita la tarea). Los recipientes deben ser de vidrio y la tapa del mismo material o de plástico para evitar la acción corrosiva de los reactivos.

Cajas de Petri de vidrio, de 10 cm de diámetro.

Pinzas de punta recta, las de punta plana facilitan asir el material.

Guantes de látex.

Procedimiento

En el pote de vidrio se vierten los reactivos hidróxido de sodio (5%) e hipoclorito de sodio (5%) en partes iguales (1: 1). Con una pinza se toma el material en la posición deseada y extrae de la solución de alcohol 50° o FAA (Fig. 1A), se sostiene pasándolo por agua para lavarlo (Fig. 1B), luego se sumerge en la solución de reactivos (Fig. 1C); puede ser la hoja completa o porción media de la misma, con la cara adaxial hacia arriba y abaxial hacia abajo. El recipiente tapado, rotulado y **sin agitar** se mantiene a temperatura ambiente (Fig. 1D), realizando el control visual de la decoloración del material, lo cual ocurre en un tiempo variable desde pocos minutos hasta 10-15 días, en general son 4-5 días (Tabla 1). Cuando

se ha decolorado, al menos parcialmente, ya que con frecuencia la vena media de la lámina demora más tiempo en decolorarse, con la pinza se toma la muestra manteniendo la posición, se extrae del recipiente y se somete al lavado (Fig. 1E). Este se hace en cajas de Petri, por la comodidad de su amplitud y poca profundidad ya que conviene no soltar el material, para evitar que se mueva y gire. El lavado se hace mínimo dos veces, en agua común o agua destilada ya que luego se lo pasa a otra caja de Petri conteniendo hipoclorito de sodio (50%) donde se completa la decoloración, generalmente en unos segundos o minutos. El material totalmente decolorado se lava 3-5 veces, en cajas de Petri, por lo menos los tres últimos lavados con agua destilada, manteniendo siempre la posición, lo cual se puede hacer sin soltar la muestra (Fig. 1E). Una vez lavado, se continúa la marcha sumergiéndolo en una solución de hidrato de cloral (5%) que se ha vertido en otra caja de Petri que se tapa, rotula y deja como mínimo 24 horas (Fig. 1F). En caso de obtener una total decoloración en la mezcla inicial de NaOH (5%) + NaClO (5%), se saltará el paso de la decoloración con hipoclorito de sodio (50%) y continuará con el lavado y sumersión en hidrato de cloral para su clarificación. Recordar que en el hidrato de cloral, el material puede permanecer varios días (nunca menos de un día).

Coloración y montaje

-Safranina al 1% (1 g de safranina en 100 mL de agua destilada).

-Safranina a saturación en alcohol 80°.

- Fucsina básica 0,5% (0,5 g en 100 mL de alcohol 50°).

Para la coloración con safranina se puede seguir la técnica indicada por Dizeo de Strittmatter (1973) o realizar la coloración simple con safranina (Zarlavsky, 2014). También se puede preparar Gelatina-safranina y directamente montar en dicha solución, para ello se extrae del hidrato de cloral, se coloca en caja de Petri con agua destilada, desde donde se toma para colocar sobre el medio de montaje (Fig. 1G, H) y luego se desliza el cubreobjetos (Fig. 1I). Cuando el material es muy delicado como pétalos de la flor o una hoja bipinnada, se introduce el portaobjeto en el agua y se arrastra el material sobre el portaobjeto (Fig. 1J), luego se seca el exceso de agua, agrega gelatina-safranina y desliza el cubreobjeto.

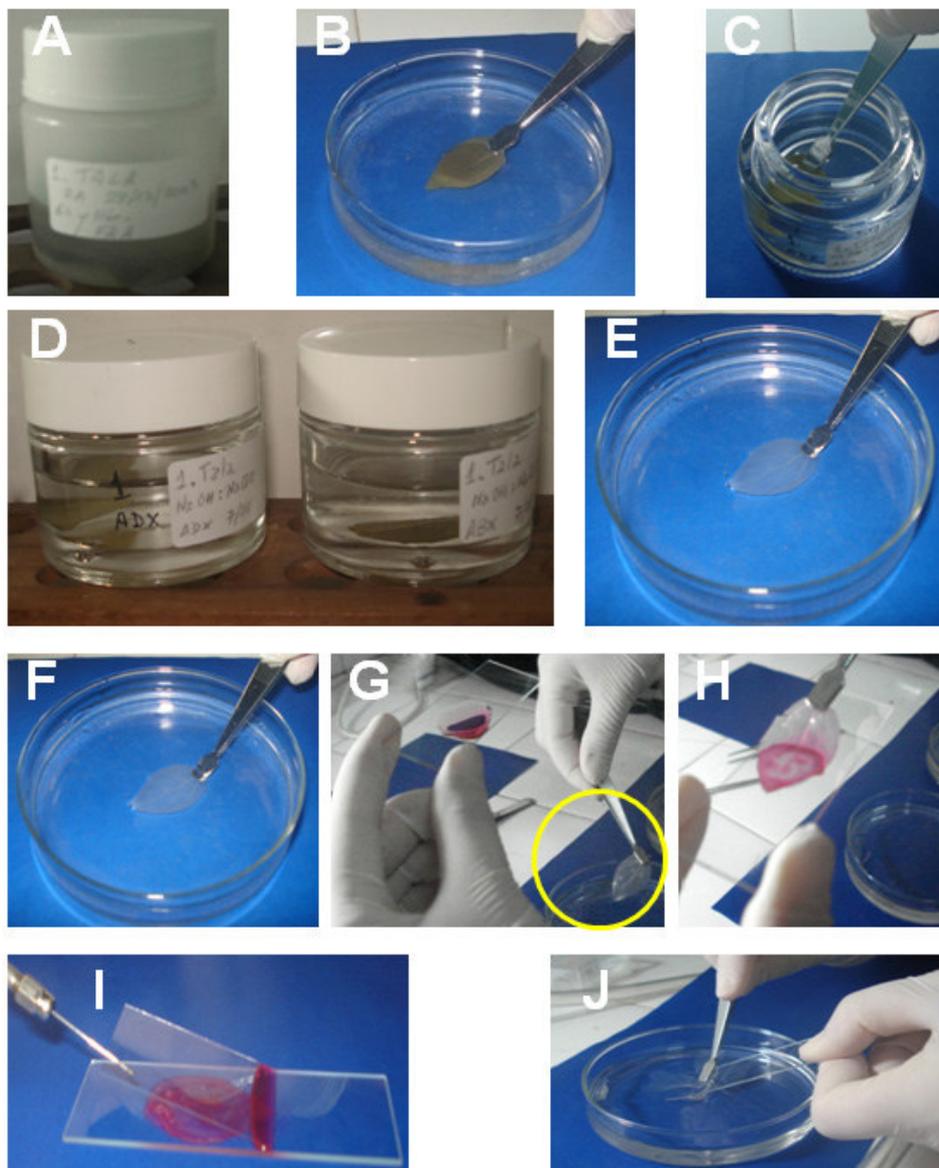


Fig. 1. Metodología. **A:** recipiente conteniendo el material en FAA. **B:** el material que es tomado con la pinza, se lava previo a colocarlo en el pote con la mezcla 1: 1 de hidróxido de sodio (5%) e hipoclorito de sodio (5%). **C:** colocación del material en la mezcla mencionada en un pote de no menos de 5 cm de diámetro. **D:** colocación (sin agitar) del pote cerrado y rotulado, sobre un soporte a temperatura ambiente, en el cual se controlará visualmente la decoloración. **E:** extracción con la pinza del material, decolorado, guardando siempre la posición, se hacen los lavados sin soltar el material. **F:** una vez totalmente decolorado se introduce en la misma posición en un recipiente con hidrato de cloral (5%), mínimo 24 horas para su clarificación. **G** y **H:** con la pinza se toma el material del hidrato de cloral y se coloca en agua. Para el montaje se prepara el portaobjeto con la gelatina-safranina y con la pinza guardando la posición se toma el material del agua –señalado con un círculo sobre la foto- y coloca en el medio de montaje. **I:** se cubre deslizando el cubreobjeto. **J:** cuando la muestra es de un material muy delicado (pétalo de la flor u hoja bipinnada) se introduce el portaobjeto en el agua y arrastra el material extendido sobre el portaobjeto, luego se seca el excedente líquido, se agrega el medio de montaje y procede a cubrir con el cubreobjeto (como se indica en I).

Tabla 1. Tiempos de clarificación con la técnica 5-5-5. Comparación de materiales vegetales conservados en FAA de diferentes especies seleccionadas. Sin tratamiento previo y con tratamiento previo de sumersión en alcohol etílico 50° durante 15 días.

Órganos y especies analizadas	Sin tratamiento previo con alcohol 50°	Con tratamiento previo 15 días con alcohol 50°
HOJAS		
<i>Acacia aroma</i>	4-5 días	
<i>Anadenanthera colubrina</i> var. <i>cebil</i>	4-5 días	
<i>Capsicum annum</i>	4-5 días	
<i>Celtis ehrenbergiana</i>	4-15 días	3-8 días
<i>Eryngium pandanifolium</i>	10-15 días	3-4 días
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	2-3 días	
<i>Muehlenbeckia sagittifolia</i>	8-12 días	2-3 días
<i>Passiflora caerulea</i>	4-5 días	
<i>Saccharum officinarum</i>	1 día	
<i>Salpichroa organifolia</i>	1 día	
<i>Tropaeolum majus</i>	2-5 días	
CLADODIOS		
<i>Opuntia</i> spp.	2-5 días	
FLORES		
<i>Eupatorium</i> sp.	12-24 horas	
<i>Lantana camara</i>	1-2 días	
<i>Thunbergia alata</i>	1-2 días	
<i>Wedelia glauca</i>	4-5 días	
FRUTOS		
<i>Senecio laetevirens</i> (cipsela)	4-5 días	
<i>Solanum melongena</i> (epicarpo)	5-24 horas	
<i>Wedelia glauca</i> (cipsela inmadura)	4-5 días	
SEMILLAS		
<i>Datura ferox</i> (episperma)	4-24 horas	
CULTIVO IN VITRO		
<i>Prosopis alpacato</i> (explante)	24-36 horas	

Para el presente trabajo se ha ensayado la preparación de Gelatina-fucsina y se obtuvieron buenos resultados. La coloración con fucsina básica, es principalmente apropiada para ver tejido vascular. También se pueden utilizar diferentes reactivos que permiten la identificación de sustancias lipofílicas, taninos, almidón, mucílagos, etc.

RESULTADOS

Se documentan los resultados en la Tabla 1, Fig. 1 y Fig. 2. Por las ventajas que presentó la nueva técnica de clarificación, se generalizó rápidamente su uso, tanto con hojas de diferentes tamaños y consistencias, como diversos órganos vegetales,

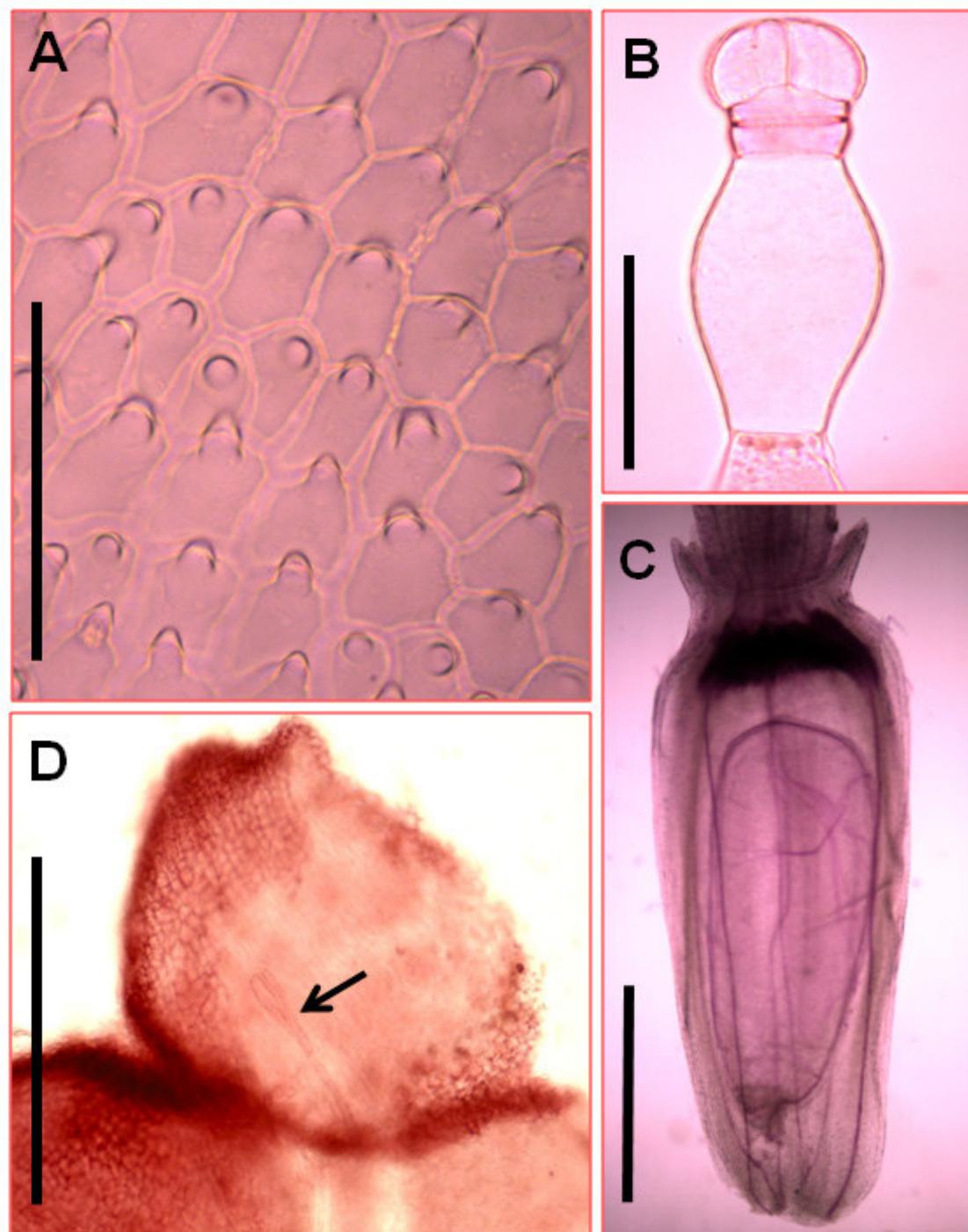


Fig. 2. A-B: *Thunbergia alata*. **A:** detalle de las células epidérmicas con papilas excéntricas en los pétalos de la corola. **B:** porción apical de un pelo glandular presente en la corola. **C:** *Wedelia glauca*, fruto tipo cipsela con la semilla, coloreada con fucsina básica, note la vascularización de la semilla y el fruto. **D:** *Prosopis alpacato*, explante diafanizado, mostrando la formación de embrión somático con inicio del tejido vascular (flecha). Escalas= A-C: 100 μ m. D: 300 μ m.

pudiendo regular con facilidad los tiempos del tratamiento. En algunos materiales se encontró que no es necesario practicar el método de clarificación, por ejemplo en raicillas de plántulas incoloras, o las hojas de lechuga (*Lactuca sativa*) que se decoloraron rápidamente con solución acuosa de hipoclorito de sodio comercial. Sin embargo, en ambos casos se mejoró la transparencia tratando el material con hidrato de cloral como mínimo 24 horas.

CONCLUSIÓN

La “técnica de clarificación 5-5-5” se desarrolla a temperatura ambiente, es un método sencillo, económico, práctico y seguro, permite trabajar diferentes órganos y tejidos, tanto de material fresco como de herbario, en este último caso previa hidratación. Es altamente recomendable para investigaciones de materiales delicados (tricomas, flores, explante) y aquellos que requieren mantener una orientación para su análisis, en especial cuando son de reducido tamaño (foliólulos).

El método muestra las siguientes ventajas, ya que permite:

- realizar clarificación de diferentes órganos o parte de los mismos.
- diafanizar materiales muy delicados, como explantes y flores.
- trabajar con material fresco como tejidos secos o de herbario, previa hidratación.
- mantener la orientación del material.
- controlar el proceso de clarificación.
- lograr una perfecta clarificación.

No es un método agresivo porque no requiere de calentamiento de los compuestos actuantes.

La única desventaja que se detectó, es que el tratamiento no es inmediato en la mayoría de los materiales vegetales utilizados.

AGRADECIMIENTOS

A mis colegas que han contribuido con el uso, ensayo, comentarios y/o preparados para las ilustraciones de esta técnica, Silvana Auguet, Patricia Boeri, Marta Colares, Marcelo P. Hernández, Santiago M. Martínez Alonso, M. Cecilia Novoa, Leandro Nughes, Lucía Valerga. Mi especial agradecimiento a Vanesa G. Perrotta

por su colaboración en la preparación de la Figura 1. Lo hago extensivo a los revisores y en especial a la editora Ana M. González por sus valiosos comentarios y sugerencias.

BIBLIOGRAFÍA

- ALTAMIRANO, C. G. & M. E. YAJÍA. 2017. Improntas reveladora de caracteres micrográficos epidérmicos con aplicación en el control de calidad de plantas medicinales. *Dominguezia* 33: 33-36.
- ARAMBARRI, A. M., M. C. NOVOA, N. D. BAYÓN, M. P. HERNÁNDEZ, M. N. COLARES & C. MONTI. 2011. Anatomía foliar de arbustos y árboles medicinales de la región chaqueña semiárida de la Argentina. *Dominguezia* 27: 5-24.
- ARAMBARRI, A. M., C. MONTI, N. D. BAYÓN, M. P. HERNÁNDEZ, M. C. NOVOA & M. COLARES. 2012. Ecoanatomía foliar de arbustos y árboles del distrito chaqueño oriental de la Argentina. *Bonplandia* 21: 5-26.
- BORELLI, L. & A. PELLIZA DE SBRILLER. 2014. Determinación de la composición botánica de la dieta de herbívoros a través de la técnica microhistológica. En: ZARLAVSKY G. E. (ed.). *Histología vegetal: técnicas simples y complejas*, pp. 153-161. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires, Argentina.
- CASTELLARO, G. G., N. F. SQUELLA, R. T. ULLRICH, C. F. LEÓN & S. A. RAGGI. 2007. Algunas técnicas microhistológicas utilizadas en la determinación de la composición botánica de dietas de herbívoros. *Agric. Téc.* 67: 68-93.
- CID, M. S. & P. SIERRA. 2004. Identificación de plantas tóxicas en el contenido gastrointestinal de rumiantes [online]. Disponible en: www.e-campo.com. [Acceso: 18 mayo 2018].
- DIZEO DE STRITTMATTER, C. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 15: 126-129.
- FOSTER, A. S. 1949. *Practical plant anatomy*, 2nd ed. D. van Nostrand Co., New York, USA.
- FREIRE, S. E., A. M. ARAMBARRI, N. D. BAYÓN, G. SANCHO, E. URTUBEY, C. MONTI, M. C. NOVOA & M. N. COLARES 2005. Epidermal characteristics of toxic plants for cattle from the Salado river basin (Buenos Aires, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 40: 241-281.
- GATTUSO, M. 2013. Micrografía analítica y la farmacobotánica. *Dominguezia* 29: 5-9.
- HERNÁNDEZ, M. P., A. M. ARAMBARRI & L. NUGHES. 2016. Efectos de la contaminación ambiental sobre la anatomía de la hoja de *Celtis ehrenbergiana* (Celtidaceae) en la ciudad de La Plata (Argentina). *Yvyrareta* 23: 30-40.

- HERR, Jr., J. M. 1971. A new clearing-squash technique for the study of ovule development in angiosperm. *Amer. J. Bot.* 58: 785-790.
- JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Co., New York, New York, USA.
- NUGHES, L., M. COLARES, M. P. HERNÁNDEZ & A. M. ARAMBARRI. 2013. Morfo-anatomía de las hojas de *Celtis ehrenbergiana* (Celtidaceae) desarrolladas bajo condiciones naturales de sol y sombra. *Bonplandia* 22: 47-58.
- PAYNE, W. W. 1969. A quick method for clearing leaves. *Ward's Bulletin* 8: 4-5.
- VASCO, A., M. THADEO, M. CONOVER & D. C. DALY. 2014. Preparation of samples for leaf architecture studies, a method for mounting cleared leaves. *Appl. Plant Sci.* 2: 1-4 [online]. Disponible en: <http://www.bioone.org/loi/apps> [Acceso: 20 mayo 2018].
- YAGUEDDÚ, C. & M. S. CID. 1992. Caracteres epidérmicos de Dicotiledóneas de la Pampa deprimida Bonaerense, de utilidad en microanálisis de dietas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 12: 265-279.
- ZARLAVSKY, G. E. 2014. *Histología vegetal: técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires. Argentina.

Recibido el 21 de junio de 2018, aceptado el 14 de agosto de 2018. Editora: Ana M. Gonzalez.

MACROSCOPIA DA MADEIRA DE *EUCALYPTUS* COMO FERRAMENTA PARA IDENTIFICAÇÃO A CAMPO

PAULA ZANATTA¹, TALITA BALDIN^{2*}, DEBORA DUARTE RIBES³, PATRÍCIA SOARES BILHALVA DOS SANTOS⁴ e DARCI ALBERTO GATTO³

Summary: Macroscopy of *Eucalyptus* wood as a field identification tool. The objective of the research was to perform a macroscopic anatomical study of the woods of six species of the genus *Eucalyptus* and to contribute to their identification at the field level. *Eucalyptus acmenoides*, *E. bosistoana*, *E. deanei*, *E. longifolia*, *E. muelleriana* e *E. racemosa* wood, not yet described anatomically, were analyzed. For this study, the basic specific mass was estimated and the samples were sanded and scarified with a scalpel, analyzed with a magnifying glass (10x magnification) and macroscopically described according to the norms of procedures in studies of wood anatomy, proposed by Coradin. The results showed similarities among the species regarding color, texture, grain, odor and grouping of the pores. The anatomical characters related to the pore distribution and the axial parenchyma are fundamental for macroscopic differentiation and recognition of these species.

Key words: basic density, eucalypt, macroscopic features, wood identification.

Resumo: O objetivo da pesquisa foi realizar um estudo anatômico macroscópico das madeiras de seis espécies do gênero *Eucalyptus* e contribuir para identificação destas em nível de campo. Foram analisadas madeiras de *E. acmenoides*, *E. bosistoana*, *E. deanei*, *E. longifolia*, *E. muelleriana* e *E. racemosa*, ainda não descritas macroscopicamente. Para esse estudo, foi estimada a massa específica básica e então, as amostras foram lixadas e escarificadas com bisturi, analisadas com lupa conta fios (aumento 10x) e macroscopicamente descritas de acordo com as normas de procedimentos em estudos de anatomia da madeira, propostas por Coradin. Os resultados demonstraram semelhanças entre as espécies quanto à coloração, textura, grã, odor e agrupamento de dos poros. Contudo, os caracteres anatômicos relacionados à distribuição de poros e o parênquima axial foram fundamentais para a diferenciação macroscópica e reconhecimento destas espécies.

Palavras-chave: características macroscópicas, eucalipto, massa específica básica, identificação de madeira.

INTRODUÇÃO

A madeira é um material constituído por um conjunto de diferentes tipos de células, as quais apresentam funções específicas de sustentação, armazenamento e transporte de substâncias vitais para a sobrevivência do vegetal (Kalita *et al.*, 2016). O conhecimento da sua constituição anatômica é

um importante ramo da ciência, fundamental no emprego de qualquer espécie arbórea, visto a ampla diversidade existente.

Ao transformar o material em madeira serrada, as características morfológicas são eliminadas, tais como folhas, flores e frutos, o que dificulta a identificação botânica. Uma das formas mais confiáveis de identificar uma espécie é por meio

¹ Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Departamento de Engenharia Florestal, Lages, SC, Brasil.

² Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Engenharia Florestal, Montes Claros, MG, Brasil.

³ Universidade Federal de Pelotas, Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Pelotas, RS, Brasil.

⁴ Universidade Federal do Pará, Departamento de Engenharia Florestal, Altamira, PA, Brasil.

* talita.baldin@hotmail.com

da anatomia da madeira em nível microscópico aliada a chaves dicotômicas. Contudo, para que isso seja possível, são necessários equipamentos e técnicas mais avançadas, bem como profissionais qualificados, o que demanda mais custo e tempo para elaboração da técnica. Para que ocorra a identificação rapidamente em nível de campo, seja no recebimento no pátio ou como fiscalização de transporte de madeiras, a macroscopia, com visualização de caracteres anatômicos a olho nu ou com aumento máximo de 10x, pode atuar como uma ferramenta eficaz no reconhecimento de espécies, com um alto grau de confiabilidade (Zenid & Ceccantini, 2012).

Entre as diferentes madeiras, as do gênero *Eucalyptus*, pelo elevado número de exemplares, são de difícil identificação por apresentarem semelhanças visuais, o que muitas vezes leva à utilização equivocada causada pela ausência do devido conhecimento da espécie e de suas propriedades intrínsecas. Sendo assim, a falta de informações e práticas inapropriadas (cor, textura, gosto e cheiro) executadas a campo levam a identificações errôneas, fraudes e emprego inadequado das espécies.

Atualmente as espécies do gênero *Eucalyptus* são as mais plantadas no mundo, com 20 milhões de hectares em cerca de 90 países, nas regiões da África, América, Ásia, Austrália e Europa (Myburg *et al.* 2014). Estas, juntamente com o *Pinus* sp., são consideradas as principais matérias-primas da indústria brasileira de processamento de toras, produção de polpa e celulose, com aplicações nos mais diversos segmentos de produção madeireira.

Existem mais de 700 espécies catalogadas de *Eucalyptus*, o que instiga os pesquisadores a realizar minuciosas avaliações, a fim de obter maiores informações sobre suas diferenças (Vital, 2007). Apesar da importância da madeira de eucalipto no setor industrial mundial, pesquisas relacionadas à caracterização anatômica macroscópica do gênero são pouco exploradas. As investigações mais abordadas são relacionadas com dimensões de fibras, as quais fornecem embasamento científico para indústria de papel e celulose. Contudo, pelas potenciais características do gênero, há um emprego expressivo na construção civil e como madeira serrada, os quais necessitam do conhecimento de suas características anatômicas para reconhecimento e destino final. Assim, com a identificação macroscópica, a partir das descrições

anatômicas a olho nú ou com baixa magnificação (10x), é possível reconhecer e prever o uso correto da madeira, o que evita gastos desnecessários e problemas futuros (Alves *et al.*, 2012; Pirralho *et al.*, 2014; Giachi *et al.*, 2016).

Frente ao crescente uso de madeiras de *Eucalyptus*, oriundas de reflorestamento, surge a necessidade de descrever e comparar espécies desse gênero em decorrência da grande semelhança anatômica. Nesse sentido, o presente trabalho tem como objetivo realizar um estudo anatômico macroscópico de madeiras de seis espécies do gênero *Eucalyptus* (*E. acmenoides*, *E. bosistoana*, *E. deanei*, *E. longifolia*, *E. muelleriana* e *E. racemosa*), cultivadas no Rio Grande do Sul e contribuir para reconhecimento destas em nível de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

As madeiras estudadas foram coletadas com 43 anos de idade em plantios comerciais instalados no ano de 1974, de propriedade da empresa Celulose RioGrandense (CMPC), na cidade de Barra do Ribeiro, Rio Grande do Sul. O clima da região onde os povoamentos estão implantados caracteriza-se como subtropical úmido, predominando solos profundos, muito profundos e excessivamente bem drenados (CMPC, 2016).

Foram adquiridos discos no diâmetro a altura do peito (DAP), tomado a 1,30 m do nível do solo, de seis espécies de *Eucalyptus*: *E. acmenoides*, *E. bosistoana*, *E. deanei*, *E. longifolia*, *E. muelleriana* e *E. racemosa*. Junto aos discos de madeira coletou-se material botânico, que serviu para a identificação das espécies. Todo material estudado foi coletado por Talita Baldin, na data de 11 de maio de 2015, no horto florestal Barba Negra da empresa CMPC Celulose Riograndense, na cidade de Barra do Ribeiro, Rio Grande do Sul, Brasil. As exsicatas, confeccionadas a partir do material coletado, foram incorporadas ao Herbário do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Santa Maria (HDCF), sob os registros disponibilizados (Tabela 1).

Para a determinação da massa específica básica foram retiradas duas cunhas diametralmente oposta (Fig. 1), as quais permaneceram imersas em água até atingir o ponto de saturação necessário à medição. Os valores determinados para esta

Tabela 1. Registro no herbário das espécies utilizadas no estudo.

Espécie	Registro no herbário (HDCF*)
<i>Eucalyptus acmenoides</i>	11. 6762
<i>Eucalyptus bosistoana</i>	7. 6758
<i>Eucalyptus deanei</i>	12. 6763
<i>Eucalyptus longifolia</i>	13. 6764
<i>Eucalyptus muelleriana</i>	5. 6755
<i>Eucalyptus racemosa</i>	6.751

*Herbário do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Santa Maria (HDCF).

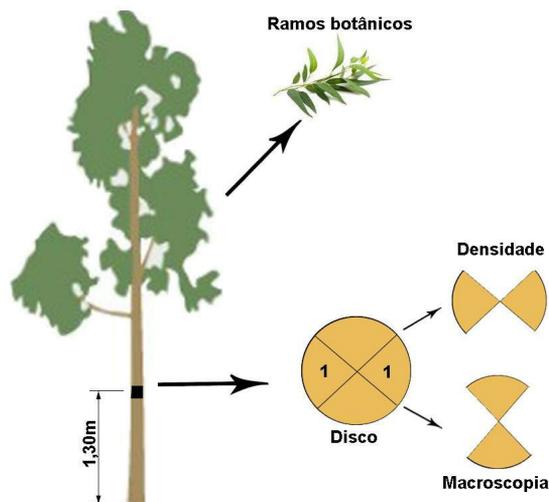


Fig. 1. Esquema de amostragem e localização das amostras para identificação botânica, massa específica e caracterização macroscópica.

variável seguiram a metodologia proposta pela American Society for Testing and Materials D 2395-93 (ASTM, 1995).

Para análise descritiva dos caracteres gerais e anatômicos macroscópicos, foram utilizadas as normas de procedimentos em estudos de anatomia da madeira, propostas por Coradin (1991). Assim, nas cunhas restantes de cada disco, observaram-se: distinção entre cerne e alburno, cor, odor, grã, brilho, textura, camadas de crescimento e visibilidade, tipo, distribuição e frequência de poros, parênquima e raios.

O método empregado para preparar as amostras foi o de escarificação manual. Para isso, primeiramente, as amostras foram lixadas nos diferentes planos anatômicos da madeira (transversal, longitudinal tangencial e longitudinal radial), escarificadas manualmente com um bisturi, para melhor visualização das características, e, posteriormente escovadas para limpeza da superfície. No caso de avaliação de caracteres anatômicos, uma lupa conta fios (de fácil aquisição em campo) foi utilizada.

Para confirmar a análise descritiva realizada nas diferentes espécies, fez-se macrofotografias das seções transversal e tangencial de cada madeira. Estas foram obtidas por meio de uma câmera digital (Digital Still Camera DSC-S75 Sony) acoplada a uma lupa ótica Zeiss Stemi SV11. Os programas MI PRO standard v1.1 e GIMP 2 auxiliaram no processamento e manipulação das imagens geradas após o método de escarificação manual.

RESULTADOS

Eucalyptus acmenoides Schauer

a) Descrição dos caracteres gerais

A massa específica básica da madeira da espécie *E. acmenoides* é considerada média ($0,64 \text{ g.cm}^{-3}$). A cor da madeira definida como marrom muito pálida possuindo cerne e alburno indistintos. Apresenta brilho moderado na sua superfície e o odor é imperceptível. A grã é direita, textura é fina e as camadas de crescimento são distintas por uma zona com coloração mais escura.

b) Descrição anatômica macroscópica

No plano transversal, os poros são visíveis sob lente de 10x, com porosidade difusa uniforme, comumente solitários, aparentemente múltiplos, distribuídos em um ângulo de, aproximadamente, 45° em relação aos raios (Fig. 2A). Os poros destacam-se em quantidade, classificados em muito numerosos de pequeno diâmetro. Parênquima axial é invisível e o radial apresenta raios finos e numerosos visíveis apenas sob lente 10x. No plano longitudinal tangencial o parênquima radial é visível sob lente 10x, não estratificado e normalmente com raios altos e largos (Fig. 2B). No plano radial o espelhado dos raios é pouco contrastado. A madeira apresenta camadas de crescimento individualizadas

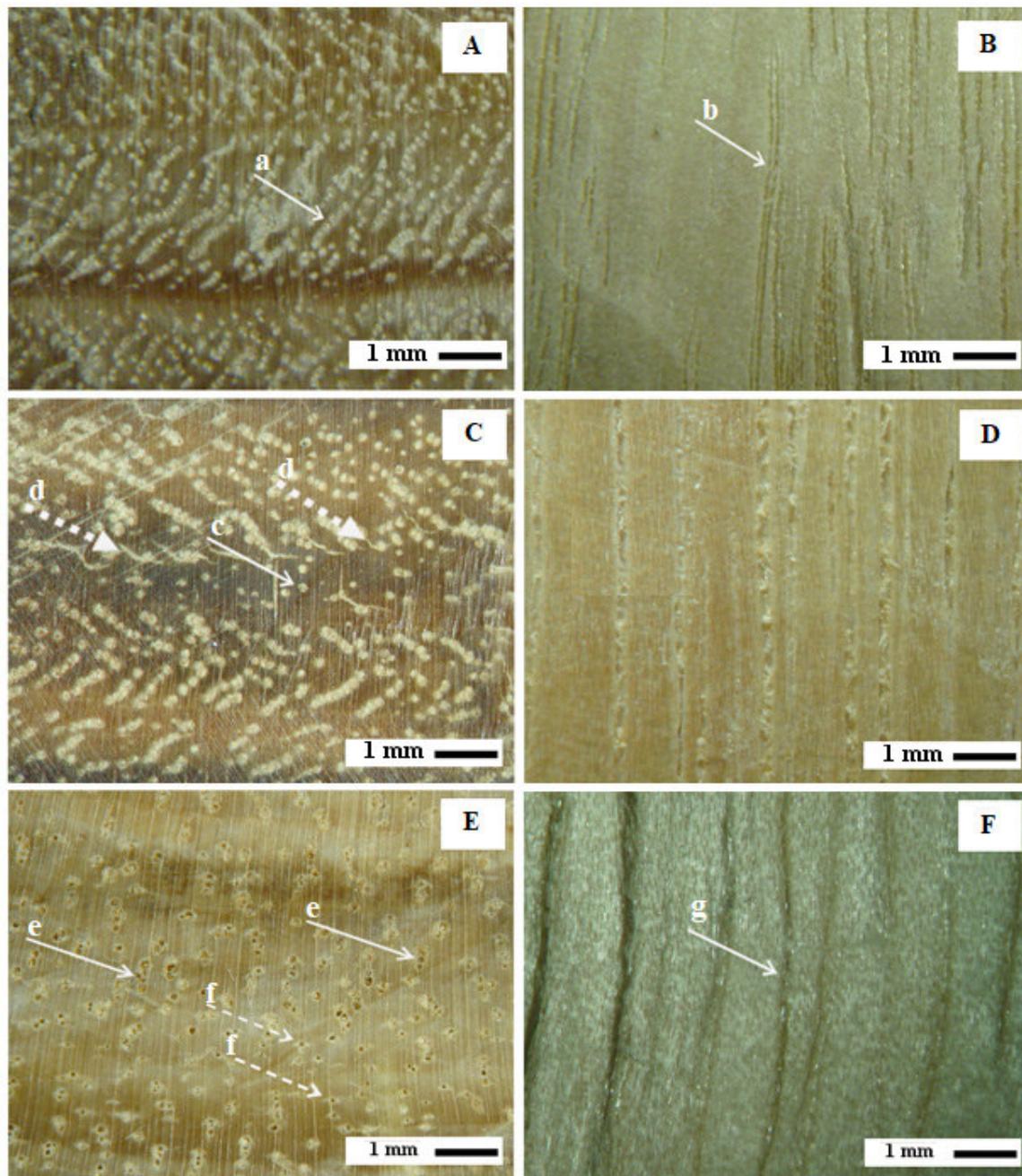


Fig. 2. A: *Eucalyptus acmenoides* em seção transversal evidenciando os poros distribuídos em um ângulo de aproximadamente 45° em relação aos raios (seta a). **B:** Mesma espécie em plano longitudinal tangencial evidenciando raios altos (seta b). **C:** *Eucalyptus bosistoana* em seção transversal evidenciando os poros solitários (seta c) e parênquima axial, vasicêntrico e aliforme (seta d). **D:** Plano longitudinal tangencial em *E. bosistoana*. **E:** Seção transversal de *Eucalyptus deanei* evidenciando porosidade difusa, agrupamento radial, de dois a quatro poros, por vezes, solitários (seta e) e parênquima axial confluyente, vasicêntrico e aliforme linear (seta f). **F:** Parênquima radial na mesma com raios altos, normalmente na mesma direção e altura (seta g), em plano longitudinal tangencial.

por zonas fibrosas mais escuras, nestas, inclusive, os vasos tendem a ser sempre solitários e distribuídos de forma uniforme.

Eucalyptus bosistoana F. Muell

a) Descrição dos caracteres gerais

A madeira possui massa específica básica alta, $0,78 \text{ g.cm}^{-3}$, coloração marrom claro, com cerne e alburno indistintos. A superfície é opaca e o odor imperceptível. A grã é direita, textura fina e as camadas de crescimento são distintas.

b) Descrição anatômica macroscópica

Os poros são visíveis sob lente 10x em plano transversal. A porosidade ocorre em anéis porosos, variando a sua frequência na camada de crescimento (Fig. 2C). Poros são solitários e aparentemente múltiplos, numerosos e diâmetro pequeno. O parênquima axial é vasicêntrico e aliforme linear, visível sob lente 10x. No plano longitudinal tangencial o parênquima radial é levemente visível a olho nu, não estratificado e normalmente com raios altos (Fig. 2D). No plano radial o espelhado dos raios não é contrastado. Madeira com camadas de crescimento individualizadas pela distribuição dos poros.

Eucalyptus deanei Maiden

a) Descrição dos caracteres gerais

Madeira de massa específica básica considerada média ($0,59 \text{ g.cm}^{-3}$). Coloração marrom muito pálida, possuindo cerne e alburno indistintos. Superfície brilhosa e odor imperceptível. A grã é classificada como ondulada, a textura é fina e as camadas de crescimento são pouco distintas.

b) Descrição anatômica macroscópica

Em plano transversal os poros são visíveis a olho nu e em porosidade difusa. Poros numerosos e de diâmetro médio, predominantemente em agrupamento radial, de dois a quatro, por vezes, solitários. Parênquima axial vasicêntrico e aliforme linear, este último, predominantemente em poros solitários (Fig. 2E). O parênquima radial é levemente visível a olho nu, finos e numerosos. No plano longitudinal tangencial o parênquima radial é visível a olho nu e com raios altos, normalmente na mesma direção e altura (Fig. 2F). Em plano radial o espelhado dos raios é pouco contrastado. A madeira de *E. deanei* apresenta camadas de crescimento individualizadas por zonas fibrosas mais escuras.

Eucalyptus longifolia Link

a) Descrição dos caracteres gerais

A madeira de *E. longifolia* tem massa específica básica média ($0,66 \text{ g.cm}^{-3}$). A cor, definida como marrom avermelhado no cerne e marrom claro na região do alburno. Apresenta brilho entre opaco e moderado na sua superfície e o odor é imperceptível. A grã é direita, a textura é fina e as camadas de crescimento são distintas apenas no alburno.

b) Descrição anatômica macroscópica

Em plano transversal os poros são visíveis sob lente 10x, com porosidade em anéis porosos no alburno (Fig. 3A) e difusa não uniforme no cerne e (Fig 3B). Poros solitários, pouco numerosos a numerosos e de pequeno diâmetro. O parênquima axial é paratraqueal vasicêntrico, contudo no alburno é pouco visível sob lente 10x.

Em plano longitudinal tangencial o parênquima radial é visível apenas sob lente 10x, não estratificado e normalmente com raios altos. Em plano radial o espelhado dos raios não é contrastado. As camadas de crescimento são individualizadas por anéis porosos pela frequência dos poros na região do alburno.

Eucalyptus muelleriana A.W. Howitt

a) Descrição dos caracteres gerais

A massa específica básica da madeira de *E. muelleriana* é considerada alta ($0,72 \text{ g.cm}^{-3}$). A cor definida como marrom muito pálida, possuindo cerne e alburno indistintos. Apresenta brilho moderado na superfície e o odor é imperceptível. A grã é inclinada, a textura é média e as camadas de crescimento são pouco distintas.

b) Descrição anatômica macroscópica

Em plano transversal, os poros são visíveis sob lente 10x e a porosidade é em anel semicircular (Fig. 3C). Os poros são solitários, classificados como pouco numerosos e médios. Parênquima axial paratraqueal vasicêntrico e parênquima radial fino e numeroso, visíveis apenas sob lente 10x. No plano longitudinal tangencial o parênquima radial é visível a olho nu, não estratificado e normalmente com raios altos (Fig. 3D). Em plano radial o espelhado dos raios não é contrastado. Camadas de crescimento individualizadas por anéis semicirculares.

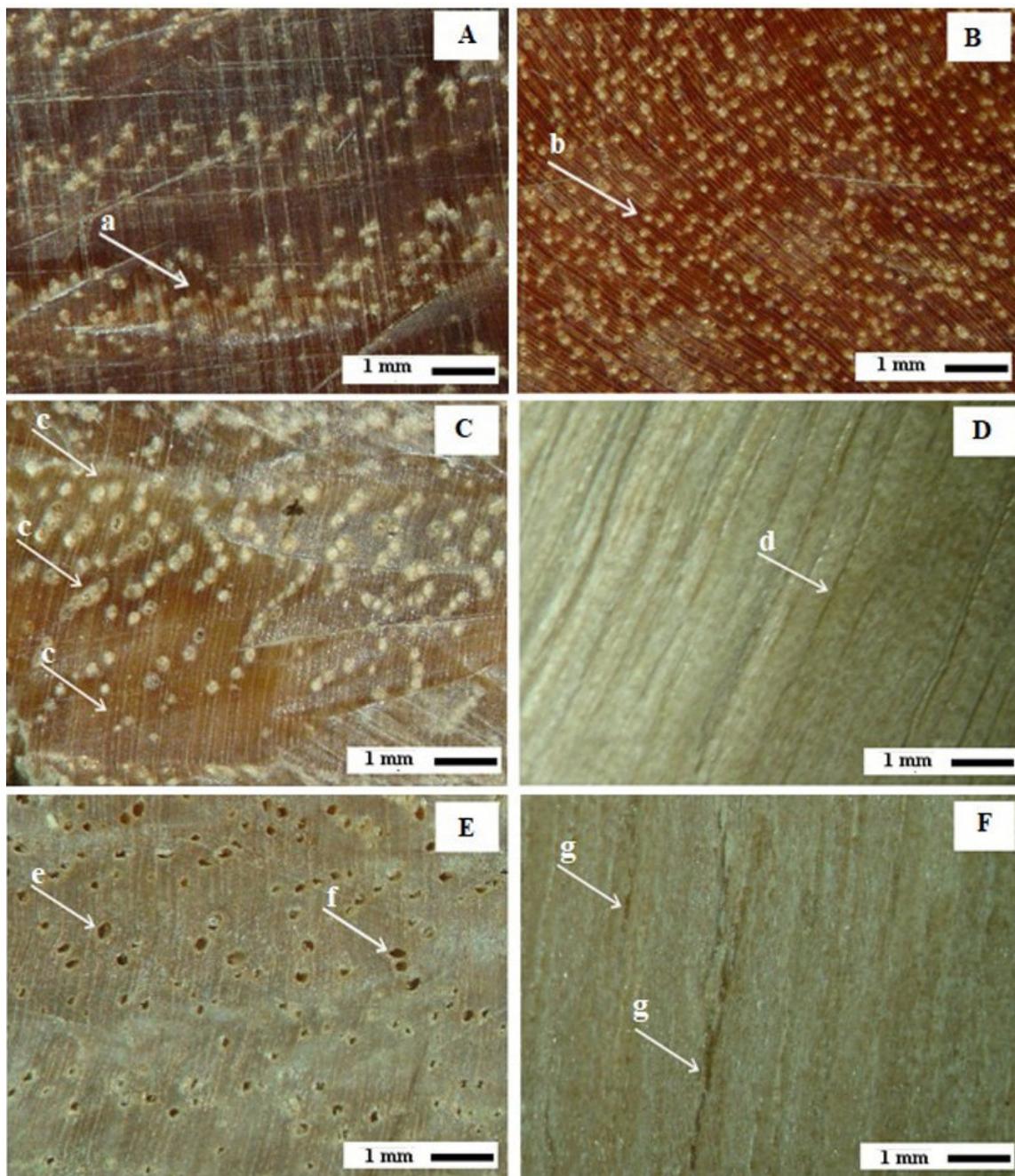


Fig. 3. **A:** *Eucalyptus longifolia* em seção transversal evidenciando porosidade em anel no albúmeno (seta a). **B:** Mesma espécie em seção transversal evidenciando a porosidade difusa do cerne (seta b). **C:** Seção transversal em *E. muelleriana* evidenciando porosidade semicircular e poros solitários (seta c). **D:** No plano longitudinal tangencial de *E. muelleriana* o parênquima radial (seta d). **E:** *Eucalyptus racemosa* em seção transversal evidenciando poros solitários (seta e) e agrupados (seta f). **F:** Parênquima radial (seta g) na seção tangencial de *E. racemosa*.

Eucalyptus racemosa Cav.

a) Descrição dos caracteres gerais

Madeira com massa específica básica de 0,57 g.cm⁻³, classificada como de média. A cor da madeira é definida como marrom pálido na região do albarno e marrom levemente avermelhado no cerne. A superfície é brilhosa, com odor imperceptível. Grã inclinada, a textura é fina e as camadas de crescimento são distintas.

b) Descrição anatômica macroscópica

No plano transversal os poros são visíveis a olho nu, com porosidade em anel poroso (Fig. 3E). Poros solitários e em maior frequência na transição do anel de crescimento, atribuindo um aspecto de faixa em algumas regiões. São pouco numerosos e de diâmetro médio, com ampla variação de tamanho. O parênquima axial é praticamente invisível, contudo, nas regiões de grande aglomeração de poros, podem ser visualizados como vasicêntrico. O parênquima radial é visível sob lente 10x e pode ser classificado como fino e numeroso. No plano longitudinal tangencial o parênquima radial é visível a olho nu, não estratificado e normalmente com raios altos (Fig. 3F). Em plano radial o espelhado dos raios é bem contrastado. A madeira apresenta camadas de crescimento individualizadas por distribuição dos poros em anéis porosos, demarcados pela sua maior frequência e por variação de diâmetro.

DISCUSSÃO

O método de escarificação manual para descrição de espécies é simples, rápido e utiliza ferramentas acessíveis. Acredita-se que em nível de campo, este se torna adequado para identificar, reconhecer e empregar corretamente madeiras (exóticas ou nativas; autorizadas ou restritas ao corte) que circulam no mercado, em um grau alto de confiabilidade. No entanto, por se tratar de uma técnica que utiliza um preparo superficial com lixas, os poros ficam obstruídos, o que limita a detecção de tilos nas estruturas porosas.

As descrições das características anatômicas macroscópicas e as fotomicrografias das diferentes espécies de *Eucalyptus* visualizadas anteriormente podem ser consideradas ferramentas importantes para serem utilizadas na identificação de madeiras em nível de campo. Estas dão um embasamento científico, considerado seguro e

rápido na fiscalização de madeiras transportadas em rodovias e auxiliam o reconhecimento destas seis espécies, como por exemplo, em serrarias.

A homogeneidade dentro de uma mesma família já é constatada na literatura, principalmente em nível macroscópico. Assim, estudos que envolvem a descrição de vasos, parênquima e raios se torna importante para descobrir peculiaridades que diferenciam as espécies, dentro de um mesmo gênero (Reis, 2015).

A massa específica básica das madeiras de *E. bosistoana* e *E. mulleriana* foram superiores às demais espécies estudadas e se assemelham ao *E. botryoides* e *E. tereticornis*, com 0,72 g.cm⁻³ e 0,76 g.cm⁻³, respectivamente, encontrado por Ávila Delucis *et al.* (2014), que também circulam e são empregadas no mercado madeireiro da região.

De modo geral, no que se refere aos caracteres gerais, houve similaridade quanto à coloração, grã, textura e odor, corroborando com a literatura de várias espécies de *Eucalyptus* (Dadswell & Burnell, 1932; Dadswell, 1972; Metcalfe & Chalk, 1950; Van Vliet & Baas, 1984; Détienne & Jacquet, 1983; Pirralho *et al.*, 2014).

Com relação à estrutura do lenho, unicamente o *E. acmenoides* demonstrou poros distribuídos uniformemente na madeira, e também parênquima invisível e camadas de crescimento distintas por zonas mais escuras. Estas características, juntamente com a coloração, são similares às encontradas por Alves *et al.* (2012) ao descrever o *E. cloeziana*, as quais podem ser facilmente confundidas.

O parênquima do tipo vasicêntrico e aliforme apareceram em abundância na maioria das espécies. Verificou-se que para o gênero *Eucalyptus* esta estrutura é comumente encontrada em espécies como: *E. grandis*, *E. citriodora*, *E. pellita*, *E. globulus* e *E. gummifera* (Tomazello Filho, 1985; Poubel *et al.*, 2011; Alves *et al.*, 2012). O agrupamento dos poros se destacou por ser em maior parte solitários, igualmente a *E. grandis* e *E. urophylla* (Brisola & Demarco, 2011).

Acredita-se que caracteres como porosidade e tipo de parênquima podem fornecer informações valiosas para diferenciação e identificação de espécies do gênero. Assim, a Tabela 2, esboça as descrições consideradas mais relevantes e que facilitam o reconhecimento das madeiras estudadas.

Tabela 2. Descrição dos caracteres anatômicos macroscópicos mais importantes para identificação das espécies estudadas.

Espécie	g.cm ⁻³	Coloração	Grã	Brilho	Textura	Camadas de crescimento	Visibilidade dos poros	Poros	Porosidade	Parênquima
<i>Eucalyptus acmenoides</i>	0.64	marrom muito pálida	direita	moderado	finha	distintas	sob lente 10x	solitários	difusa	invisível
<i>Eucalyptus bosistoana</i>	0.78	marrom claro	direita	opaco	finha	distintas	sob lente 10x	solitários	anéis porosos	vasicêntrico aliforme
<i>Eucalyptus deanei</i>	0.59	marrom muito pálida	ondulada	brilhoso	finha	pouco distintas	olho nu	agrupamento radial	difusa	confluente vasicêntrico aliforme linear
<i>Eucalyptus longifolia</i>	0.66	marrom avermelhado (cerne); marrom claro (alburno)	direita	opaco a moderado	finha	distintas apenas no alburno	sob lente 10x	solitários	difusa (cerne); anéis porosos (alburno)	vasicêntrico
<i>Eucalyptus mulleriana</i>	0.72	marrom muito pálida	inclinada	moderado	média	pouco distintas	sob lente 10x	solitários	anel semi circular	vasicêntrico
<i>Eucalyptus racemosa</i>	0.57	marrom levemente avermelhado (cerne); marrom pálido (alburno)	inclinada	brilhosa	finha	distintas	olho nu	solitários	anéis porosos	invisível

CONCLUSÃO

As espécies do gênero *Eucalyptus* estudadas demonstraram semelhança nas caracterizações gerais e anatômicas. Contudo, uma riqueza de detalhes essenciais foi observada para contribuir na correta identificação e diferenciação das espécies estudadas. O método de escarificação com bisturi e análise com lupa conta fios (aumento 10x) é rápido e eficiente para reconhecimento em nível de campo. Recomenda-se ao identificador atenção em detalhes anatômicos, quanto à distribuição de poros e camadas de crescimento, bem como parênquima axial.

Após o corte da árvore e exclusão de todos os caracteres botânicos, as descrições realizadas podem ser utilizadas como ferramentas de reconhecimento e distinção entre as espécies em nível de campo. Sendo assim, estudos anatômicos de fácil abordagem se tornam importantes e podem atuar no auxílio a órgãos de fiscalização e contribuir uma garantia na comercialização legal de madeiras.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CMPC pela disponibilidade das madeiras de *Eucalyptus* e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [151833/2018-9].

BIBLIOGRAFIA

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM D 2395-93. 1995. *Test methods for specific gravity of wood and wood-base materials*. Philadelphia.
- ALVES, R. C., J. T. S. OLIVEIRA., J. MOTTA. & J. B. PAES. 2012. Caracterização anatômica macroscópica de madeiras folhosas comercializadas no Estado do Espírito Santo. *Floresta e Ambiente* 19: 352-361.
- DE AVILA DELUCIS, D. A. GATTO, P. H. G. CADEMARTORI, A. L. MISSIO & E. SCHNEID. 2014. Propriedades físicas da madeira termorretrificada de quatro folhosas. *Floresta e Ambiente*. 21: 99-107.
- BRISOLA, S. H. & D. DEMARCO. 2011. Análise anatômica do caule de *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* e *E. grandis* x *urophylla*: desenvolvimento da madeira e sua importância para a indústria. *Scientia Forestalis*. 39: 317-330.
- CMPC, CELULOSE RIOGRANDENSE. 2016. Plano de Manejo 2016: Resumo Público [online]. Disponível em: http://www.celuloseriograndense.com.br/docs/dl/plano_de_manejo_web.pdf [Acesso em 10 Abril 2017].
- CORADIN, V. T. R. & G. B. MUNIZ. 1991. *Normas de procedimentos em estudos de anatomia de madeira; 1: Angiosperma; 2: Gimnospermae*. Brasília: IBAMA. DIRPED, Laboratorio de Produtos Florestais.
- DADSWELL, H. E. The anatomy of the *Eucalyptus* woods. 1972. *Division of Applied Chemistry Technological Paper* 66: 1-28.
- DADSWELL, H. E. & M. BURNELL. 1932. *Methods for the identification of the coloured woods of the genus Eucalyptus*. CSIR Div. For. Prod., Technical Paper No. 5.
- DÉTIENNE, P. & P. JACQUET. 1983. *Atlas d'identification des bois de l'Amazonie et des régions voisines*. Nogent-sur-Marne: Gerdat-ctft.
- GIACHI, G., M. C., GUIDOTTI, S. LAZZERI, L. SOZZI & N. MACCHIONI. 2016. Wood identification of the headrests from the collection of the Egyptian Museum in Florence. *Journal of Archaeological Science: Reports* 9: 340-346.
- KALITA, K., N. DAS, P. K. BORUAH & U. SARMA. 2016. Development of a strain measurement system for the study of effect of relative humidity on wood. *Measurement* 94: 265-272.
- METCALFE, C. R. & L. CHALK. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press: Oxford.
- MYBURG, A. A., D. GRATTAPAGLIA, G. A. TUSKAN, U. HELLSTEN, R. D. HAYES, J. GRIMWOOD & D. M. GOODSTEIN. 2014. The genome of *Eucalyptus grandis*. *Nature* 510: 356-362.
- PIRRALHO, M., D. FLORES, V. B. SOUSA, T. QUILHÓ, S. KNAPICA & H. PEREIRA. 2014. Evaluation on paper making potential of nine *Eucalyptus* species based on wood anatomical features. *Ind. Crop. Prod.* 54: 327-334.
- POUBEL, D., R. A. GARCIA, J. V. F. LATORRACA & A. M. CARVALHO. 2011. Estrutura anatômica e propriedades físicas da madeira de *Eucalyptus pellita* F. Muell. *Floresta e Ambiente* 18: 117-126.
- REIS, A. Anatomia da madeira de quatro espécies de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. 2015. Comercializadas no estado do Pará, Brasil. *Revista Ciência da Madeira* 6: 47-62.
- TOMAZELLO FILHO, M. 1985. Estrutura anatômica da madeira de oito espécies de eucalipto cultivadas no Brasil. *Scientia Forestalis* 29: 5-36.
- VAN VLIET, G. J. C. M. P. & BAAS. 1984. Wood anatomy and classification of the Myrtales. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 71: 783-800.
- VITAL, M. H. F. 2007. Impacto ambiental de florestas de eucalipto. *Revista do BNDES* 14: 235-276.
- ZENID, G. J. & G. C. T. CECCANTINI. 2007. *Derivados, Produtos. Identificação macroscópica de madeiras*. São Paulo: IPT.

Recibido el 3 de julio de 2018, aceptado el 17 de septiembre de 2018. Editora: Ana M. Gonzalez.

EFFECTO DE LA VINAZA SOBRE EL CRECIMIENTO Y PRODUCTIVIDAD DE LA SOJA (*GLYCINE MAX*) EN CONDICIONES SEMICONTROLADAS

JUAN A. GONZÁLEZ^{1*}, SEBASTIÁN E. BUEDO¹, FERNANDO E. PRADO² y
SABRINA ÁLVAREZ³

Summary: Effects of vinasse on the growth and productivity of soybean (*Glycine max*) under semicontrolled conditions. The vinasse is an effluent generated in the production of ethanol. It is constituted by 90% water with acid pH and contains 10% of organic and inorganic compounds. The great volume of vinasse generated annually can lead to large scale contamination of both soils and water courses, which consequently can lead to socioeconomic risks. To counteract this problem, one viable possibility may be the use of vinasse as fertilizer to different crops. However, this possibility requires an evaluation of vinasse effects on plants and soils during short- and long-time periods. In this study the effect of different vinasse dilutions (1:1, 1:5 and 1:10 v/v) on the growth and productivity of soybean crop under semicontrolled conditions was evaluated. Plant height, stem diameter and leaf number did not vary significantly when comparing with the control (without vinasse). While specific leaf area (SLA) and leaf nitrogen content if were affected. Grain volume was not affected under all vinasse treatments whereas grain yield was only affected at the lowest dilution. Results are discussed in relation to stress induced by vinasse treatment.

Key words: Vinasse, contamination, soybean, growth, stress, yield.

Resumen: La vinaza es un efluente que se genera en la obtención de etanol, está constituido en un 90% por agua, su pH es ácido y contiene 10% de compuestos orgánicos e inorgánicos. El enorme volumen de vinaza que se genera anualmente, puede llevar a la contaminación de suelos y cursos de agua en gran escala con el consiguiente riesgo socioeconómico que tal situación puede producir. Una posibilidad para dicha problemática puede ser la utilización de la vinaza para fertirriego de diferentes cultivos. Sin embargo, tal posibilidad requiere evaluar sus efectos sobre las plantas como en los suelos a mediano y largo plazo. En este estudio se evaluó el efecto de diferentes diluciones de vinaza (1:1, 1:5 y 1:10 v/v) sobre el crecimiento y productividad de la soja bajo condiciones semicontroladas. La altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas no variaron significativamente respecto al control sin vinaza; mientras el área foliar específica (AFE) y el contenido de nitrógeno foliar si resultaron afectados. El volumen de grano no resultó afectado en todas las diluciones aplicadas; en tanto que, el rendimiento granario solo fue afectado a la menor dilución. Los resultados se discuten en términos del estrés provocado por la vinaza.

Palabras clave: Vinaza, contaminación, soja, crecimiento, estrés, rendimiento.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas ambientales que enfrenta la actividad sucroalcoholera en el Noroeste Argentino (NOA), y en especial en la provincia de Tucumán por ser la que más etanol produce, es la generación de vinazas. Este residuo, producto

de la destilación de la melaza para la obtención de etanol, se caracteriza por una elevada carga orgánica, pH ácido y sobre todo por el enorme volumen que se genera cada año. La vinaza, se encuentra entre los residuos industriales de mayor efecto contaminante sobre los ecosistemas ya que se caracteriza por una demanda química de

¹ Fundación Miguel Lillo - Instituto de Ecología - Miguel Lillo 251 - (4000) Tucumán (Argentina).

² Facultad de Cs. Naturales e IML, Universidad Nacional de Tucumán, Cátedra de Fisiología Vegetal, Miguel 205, (4000) Tucumán, Argentina.

³ Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Ayacucho 471 - Tucumán, Argentina.

* jagonzalez@lillo.org.ar

oxígeno (DQO₅) entre 60.000 y 70.000 mg/L y un pH alrededor de 4,4 (Cárdenas *et al.*, 1984; Madejón *et al.*, 2001; Urbano Terrón, 2002). En relación al volumen de vinaza que se genera en el proceso de destilación, se considera que por cada litro de alcohol se generan entre 10 y 12 litros de vinaza (Quintero *et al.*, 2006). Dado que en los últimos años la producción de alcohol ha mostrado un sostenido crecimiento, la generación de vinaza también experimentó un fuerte aumento lo que lleva aparejado un potencial riesgo para el medio ambiente de no mediar rápidas y eficaces soluciones para esta problemática. En el caso de la provincia de Tucumán la producción de alcohol derivado de la melaza se incrementó desde los 150.000 m³ en el año 2006 hasta los 280.000 m³ en la zafra 2015/2016; lo que se tradujo en la generación de 1.800.000 m³ y 3.360.000 m³ de vinaza, respectivamente (Ministerio de Agroindustria, 2016). Los volúmenes mencionados no sólo dan una idea de la magnitud del problema, sino de la propia imposibilidad que representa el almacenamiento de los mismos por largo tiempo. Esta situación coloca a la industria sucroalcoholera en la necesidad de buscar alternativas tanto para disminuir la generación de vinaza en la producción de alcohol como en la reutilización de la que se genera, mediante adecuaciones tecnológicas y/o biotecnológicas.

La vinaza en promedio contiene aproximadamente 90% de agua y 10% de materia orgánica e inorgánica, pero su composición química varía con el proceso de destilación empleado, la materia prima utilizada, el sistema de fermentación implementado y el tipo de levadura utilizada (Gómez Toro, 1996; García *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2008). En términos generales la composición química de la vinaza, además de agua, incluye compuestos orgánicos como hexosas (glucosa y fructosa) y ácidos volátiles (fórmico, butírico) y no-volátiles (aconítico, láctico, fumárico, málico, sucínico y cítrico), e inorgánicos como Ca, Mg, K, bicarbonato, cloruro y sulfato, entre otros (Cárdenas *et al.*, 1984; Dantur *et al.*, 1996; González, 2000). En base a su composición química, algunos investigadores han propuesto la aplicación directa de la vinaza como fertilizante en el cultivo de la caña de azúcar (Dantur *et al.*, 1996, Scandaliaris *et al.*, 1985, 1987). En ese sentido, se ha demostrado que la aplicación de vinaza a los campos azucareros mejora la productividad

del cultivo y el rinde sacarino; demostrándose con ello que la vinaza puede sustituir parcial o totalmente la fertilización tradicional (Gómez Toro, 1996). En la provincia de Tucumán, se han realizado investigaciones que demuestran que aplicando hasta 150 m³ por hectárea/año de vinaza en el cultivo de la caña de azúcar, no se presentan problemas para los suelos (Fadda & Morandini, 2007). Sin embargo, es importante destacar que la vinaza contiene un elevado porcentaje de K, por lo que su aplicación en los campos debe ser cuidadosa para evitar la acumulación de este ión; lo que podría conducir a la salinización potásica de los suelos. Otras alternativas propuestas en nuestra provincia dentro del Programa de Reconversión Industrial (PRI) incluyen el uso de la vinaza junto a otros desechos de la caña de azúcar (bagazo) para la elaboración de compost, o en caldos de cultivo para producir inoculantes destinados al tratamiento de desechos de la industria citrícola. En otros países azucareros también se han propuesto diferentes procedimientos para la eliminación de la vinaza. Dichos procedimientos incluyen, entre otros, la digestión anaeróbica para producir biogás que podría usarse como combustible en la propia destilería con el consiguiente beneficio económico (Valdés *et al.*, 1992). Según estos mismos autores, el lodo residual podría emplearse a su vez como alimento animal o biofertilizante. Por otra parte, también se propuso la concentración de la vinaza y su posterior incineración para producir energía (Chaves Solera, 2004; Perera, 2009), para la restauración del suelo (Tejada *et al.*, 2007) o como aditamento alimenticio para cerdos (Sarría & Preston, 1992). También se ha propuesto la utilización de la vinaza para la producción de algas como la *S. máxima* para la obtención de aceites orgánicos para ser usados como biocombustibles (Montenegro-Ferraz *et al.*, 1986). Incluso se ha intentado usar la vinaza para el control de hongos fitopatógenos (Santos *et al.*, 2008).

Si bien, las propuestas para eliminar la vinaza son bastantes numerosas y diversas, su control y gestión aún no está resuelta en ningún país. En la región NOA esta preocupación solo se ha materializado en el control estatal de su confinamiento en piletas de almacenamiento para evitar su vertido en los cursos de agua. Sin embargo, esta es una solución parcial ya que el volumen de vinaza producido es muy elevado. Al momento existe un consenso generalizado que el excesivo volumen de vinaza

generado requerirá la implementación de diferentes métodos y/o estrategias de control o reuso; es decir, la combinación de distintos procedimientos hasta arribar a una solución integral de esta problemática. Por lo tanto, el estudio de alternativas de reuso para este desecho se ha convertido en una necesidad ambiental, social y económica de extrema urgencia.

Aunque la mayor parte de los estudios locales sobre el efecto de la vinaza en especies vegetales se han concentrado casi en forma exclusiva sobre la caña de azúcar (Scandaliaris *et al.*, 1985, 1987; Dantur *et al.*, 1996; Gómez Toro, 1996), algunos estudios sobre otras especies también fueron llevados a cabo. Así, se demostró que la dilución de la vinaza en agua (1:5, 1:10 y 1:20 v/v) afectaba en no más del 10% la germinación de soja, trigo y quinoa bajo condiciones controladas (González *et al.*, 2014). En el mismo estudio, se demostró también que la aplicación de vinaza afectaba el crecimiento radicular. De lo que surge que resulta necesario profundizar estas investigaciones, en especial sobre el crecimiento y la fisiología, para un mejor entendimiento del efecto de la vinaza sobre los diferentes cultivos que se desarrollan en la región NOA. Por ello, en este estudio se analiza el efecto de la vinaza sobre un cultivo muy difundido en el NOA como es la soja. Concretamente se propone evaluar el efecto de distintas diluciones de vinaza sobre los parámetros de crecimiento y la producción de grano bajo condiciones semicontroladas (invernadero).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de crecimiento

Se utilizaron semillas de soja (*G. max*) variedad A 6126 (semillero NIDERA). Las mismas se sembraron en macetas de 8 L de capacidad que contenían tierra proveniente de una zona sojera de la provincia de Tucumán (Ruta 303, entrada a Los Lapachitos, 26° 52' 34" S y 64° 53' 07" E, 422 m snm). Dicha tierra consiste en suelo tamizado (desprovisto de piedras y restos vegetales) que se extrajo a 10-20 cm de profundidad a lo largo de una diagonal en un cuadrado imaginario de 50x50 m. Una porción del material tamizado fue separada y sometida a un análisis físico-químico.

La profundidad de siembra fue de 2-3 cm. Al momento de la siembra se colocaron 6 semillas por maceta agrupadas de a dos y equidistantemente

distribuidas. Con este esquema se obtuvieron 6 plantas por macetas, pero para evitar competencias entre ellas se dejaron solamente tres por maceta. Los primeros 40 días de desarrollo fueron al aire libre y después de ese tiempo se trasladaron las macetas a un invernadero donde permanecieron 14 días (período de aclimatación) antes de iniciar el tratamiento con vinaza.

Tratamiento con vinaza

Luego del período de aclimatación se separaron las macetas en 4 grupos. Las macetas de grupos 1, 2 y 3 (tratamiento) se regaron con vinaza diluida en agua (1:1, 1:5 y 1:10 v/v), mientras que las del cuarto grupo (control) se regaron solo con agua. Los riegos se realizaron cada 2-3 días para evitar el estrés hídrico. Durante todo el periodo de tratamiento (113 días) se registraron cada hora dentro del invernadero la temperatura ambiente (T), humedad relativa (HR), radiación visible (RV) y radiación fotosintéticamente activa (RFA) con sensores específicos acoplados a dataloggers.

Vinaza utilizada

La vinaza utilizada en las experiencias fue provista por un ingenio ubicado en la Banda de Río Salí (Departamento Cruz Alta, Tucumán). La misma fue obtenida antes de la entrada a las piletas de contención. Al momento de la toma de muestras se registró la temperatura de la vinaza, el pH, la conductividad eléctrica (CE), la turbidez, el oxígeno disuelto (OD) y la salinidad con una sonda multiparamétrica (Horiba, Japan) calibrada previamente.

Análisis físico-químico del suelo

El análisis del suelo utilizado para la siembra se realizó en el laboratorio de análisis químicos de la Estación Experimental Agrícola Obispo Colombres (EEAOC).

Crecimiento de las plantas

Para estimar el crecimiento de las plantas se midió la altura, diámetro del tallo principal, número de hojas, número de nudos, área foliar específica (AFE) y masa foliar específica (1/AFE). La altura de las plantas se midió con una cinta milimétrica mientras que el diámetro del tallo se lo hizo con un calibre digital. Estas mediciones se repitieron cada 2-3 días hasta que la altura alcanzó su máximo (72-76 días posteriores a la siembra). Para estimar

el AFE se tomaron hojas de plantas completamente desarrolladas a razón de 5 por cada ensayo. De cada una de ellas, se extrajeron muestras con un sacabocados (10 discos de 8,29 mm de diámetro). Los discos que se obtuvieron se colocaron dentro de sobres de papel y se secaron en estufa a 84°C hasta peso constante (24- 36 h) a fin de obtener el peso seco (PS). Con el valor del PS y el área de los discos extraídos se procedió a calcular el AFE, expresado en $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ PS. La inversa del AFE o masa folia específica (MFE), se expresó en mg de PS cm^{-2} de hoja.

Pigmentos fotosintéticos y protectores (absorbentes de UV-B y antocianos)

Para determinar los pigmentos fotosintéticos y absorbentes de UV-B se usaron las mismas hojas que se utilizaron para obtener el AFE. De la parte media de la semilamina de cada hoja se sacaron 3 discos de 2,89 mm de diámetro empleando un sacabocados metálico. Los discos extraídos se colocaron en tubos Eppendorf conteniendo 2 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) y se dejaron en estufa a 45°C por 12 h en condiciones de oscuridad (Chappelle *et al.*, 1992). El contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y carotenoides se determinó a partir de las lecturas de absorbancia a 649, 665 y 480 nm en un espectrofotómetro UV-visible (U-2800, Hitachi, Japan). El contenido de pigmentos fotosintéticos se obtuvo a partir de las fórmulas de Wellburn (1994):

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g ml}^{-1}\text{)} = (12,19 * A_{665}) - (3,45 * A_{649})$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g ml}^{-1}\text{)} = (21,99 * A_{649}) - (5,32 * A_{665})$$

$$\text{Clorofila total (}\mu\text{g ml}^{-1}\text{)} = \text{Cl } a * \text{Cl } b$$

$$\text{Carotenoides (}\mu\text{g ml}^{-1}\text{)} = (1000 * A_{480} - 2,14 * \text{Cl } a - 70,16 * \text{Cl } b) / 220$$

Los pigmentos protectores se obtuvieron usando 2 discos foliares y 2 ml de metanol acidulado (metanol, HCl, agua 79:1:20) de acuerdo a la técnica de Mirecki & Teramura (1984). Para los pigmentos absorbentes de UV-B y antocianos las lecturas de absorbancia se hicieron a 305 nm y 540 nm, respectivamente. El contenido de los mismos se expresó como A_{305}/g PS y como A_{540}/g PS, respectivamente.

Contenido de nitrógeno foliar (N_f)

Para determinar el contenido de N_f se secaron hojas adultas de plantas completamente desarrolladas en estufa a 45°C durante 24–36 horas. Una vez transcurrido este tiempo, el material seco

se molió a polvo fino y se procedió a determinar el contenido de nitrógeno por el método de Kjeldahl.

Rendimiento granario

Para obtener el rendimiento granario se procesaron 20 plantas diferentes de cada tratamiento cosechadas a los 113 días de iniciado el cultivo. El resultado se expresó en g/planta . Paralelamente se determinó el peso de 1000 semillas y se midió el diámetro de las mismas. A partir del diámetro del grano, asumiendo que tiene forma esférica, se calculó su volumen.

Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se analizaron mediante el test de Shapiro para conocer la distribución y luego una prueba F (Fisher) para determinar la homogeneidad o heterogeneidad de las varianzas. Para establecer la existencia o no de diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0,05$ y $p \leq 0,01$), se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el paquete estadístico Infostat (versión 1.1).

RESULTADOS

Parámetros fisicoquímicos del suelo y de la vinaza

Los parámetros fisicoquímicos del suelo utilizado para llenar las macetas se muestran en la Tabla 1. Su pH es moderadamente alcalino y no presenta características de suelo salino de acuerdo a los valores de resistencia eléctrica. El contenido de materia orgánica es bajo lo mismo que el de carbonato de calcio, pero no así el de fósforo que resultó alto. Los parámetros fisicoquímicos de la vinaza se resumen en la Tabla 2. El pH resultó ácido, con elevada conductividad eléctrica y elevada turbidez. El grado de salinidad fue alto, mientras que el OD fue bajo.

Datos climatológicos del invernadero

En la Tabla 3 se resumen los datos de temperatura (T), humedad relativa (HR), radiación visible (RV) y radiación fotosintéticamente activa (RFA) registrados en el interior del invernadero que contenía las macetas de los distintos tratamientos.

Parámetros de crecimiento

El crecimiento en altura mostró la típica forma sigmoidea en todos los tratamientos incluido el

Tabla 1. Propiedades físico-químicas del suelo utilizado para el cultivo de soja bajo diferentes riegos con vinazas.

Lugar	Profundidad (cm)	pH	R.E. (Ohms)	Textura	M.O. (%)	P (ppm)	CO ₃ Ca (%)
Ruta 303 - Los Lapachitos	10 – 20	8	781	Franco-Arenoso	1,6	24,6	0,2

R.E.: Resistencia eléctrica a 15,6°C; M.O.: Materia orgánica; P: Fósforo. Análisis en el Laboratorio de Suelos de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC)

Tabla 2. Propiedades físico-químicas de las vinazas utilizadas.

pH	C.E. (mS cm ⁻¹)	Turb. (NTU)	O.D. (mg L ⁻¹)	T (°C)	Sal. (%)
4,8	40,9	999	0,19	75	2,6

C.E.: Conductividad eléctrica; Turb.: Turbidez; O.D.: Oxígeno Disuelto; T.: Temperatura de la vinaza al momento del muestreo; Sal: Salinidad.

Tabla 3. Resumen de datos micrometeorológicos registrados dentro del invernáculo donde se cultivó la soja con vinazas.

	T (°C)	HR (%)	RV (W m ⁻²)	RFA (μmol m ⁻² s ⁻¹)
Media	17,3	61,9	216,6	357,9
Máxima	27,2	83,7	1117,5	1969,8
Mínima	11,1	33,6	-	-

T: temperatura dentro del invernáculo; HR: Humedad Relativa dentro de invernáculo; RV: Radiación visible; RFA: Radiación fotosintéticamente activa.

control sin vinaza. En todos los casos la mayor velocidad de crecimiento se observó entre los días 20 y 70 de cultivo. La altura máxima alcanzada por las plantas control fue de 38,5 cm mientras que en los diferentes tratamientos dicho valor osciló entre 36,1 y 38,2 cm. En todos los casos no se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) con el control. El diámetro de tallo en los distintos tratamientos no presentó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) respecto al control. El número de hojas, por su parte, fue significativamente menor en los tratamientos con vinaza diluida 1:1 y 1:5 pero no en la dilución 1:10. Con relación al número de nudos, no se observaron diferencias significativas entre el control y los tratamientos 1:5 y 1:10, pero si respecto al tratamiento 1:1. El AFE mostró diferencias altamente significativas ($p \leq 0,01$) entre el control y los tratamientos, mientras que el contenido de nitrógeno foliar (N_f) también mostró diferencias significativas entre los mismos. En los tratamientos 1:1 y 1:5 el N_f disminuyó 19% y 27% respectivamente, mientras que en la mayor dilución (1:10) dicha disminución fue solo del 9,6% (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto del riego con vinazas diluidas en soja sobre la altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas, número de nudos, área foliar específica (AFE) y contenido de nitrógeno foliar.

Trat.	Altura (cm)	Diámetro tallo (cm)	Nº de hojas	Nº de nudos	AFE (cm ² g ⁻¹ PS)	N ₂ foliar (%)
Control	38,5 (1,4) a	3,95 (0,3) a	14,0 (1,9) a	8,42 (0,4) a	247,9 (10,0) a	2,70 a
1:1	36,8 (2,1) a	3,85 (0,7) a	12,67 (1,9) b	8,00 (0,3) b	192,3 (11,3) b	2,20 b
1:5	38,2 (3,8) a	3,98 (0,4) a	13,38 (2,1) b	8,25 (0,5) a	195,2 (20,1) b	1,96 b
1:10	36,1 (2,7) a	4,05 (0,3) a	14,0 (2,1) a	8,19 (0,8) a	195,4 (5,80) b	2,44 b

Trat.: Tratamientos. Los valores de altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas y número de nudos son el promedio de 20 plantas diferentes. El valor del AFE expresado es el promedio de 5 plantas diferentes. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estandar. Letras diferentes significa que existen diferencias significativas ($p \leq 0,05$) con respecto al control.

Rendimiento granario y características de las semillas

Los tratamientos 1:1 y 1:5 afectaron al número de vainas por planta ($p \leq 0,05$). Sin embargo, en el tratamiento 1:10 esta variable no presentó diferencias estadísticamente significativas con el control. Considerando el número de semillas por planta y el volumen de las mismas, el único tratamiento donde se observaron diferencias significativas fue la dilución 1:1 con valores que resultaron diferentes en un 18% y 14% respectivamente (Tabla 5). Por su parte, el peso de 1000 semillas mostró una disminución del 7% en el tratamiento 1:1 respecto al control, pero el análisis estadístico no reveló diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Pigmentos fotosintéticos y protectores (absorbentes de UV-B y antocianos)

Tanto el contenido de clorofila *a* como el de clorofilatotal resultaron afectados significativamente en todos los tratamientos respecto al control. Sin embargo, el contenido de Cl *b* y carotenoides al igual que la relación Cl *a*/Cl *b* no difirieron significativamente del control. Respecto a los pigmentos absorbentes de UV-B, la única diferencia significativa con el control (-29%) se observó en el tratamiento 1:1; mientras en los restantes tratamientos los valores fueron similares al control. En el caso de los antocianos la disminución fue bastante pronunciada en todos los tratamientos especialmente en el 1:1, con reducciones que oscilaron entre el 40% y el 70% (Tabla 6).

Tabla 5. Efecto del riego con vinazas diluidas en soja sobre el número de vainas, número de semillas por planta, peso de 1.000 semillas y volumen de las mismas bajo distintos tratamientos.

	Vainas pl^{-1}	Semillas pl^{-1} (g)	1000 semillas (g)	Volumen de semillas (mm^3)
Control	14,3 (2,8) a	3,17 (0,9) a	123,9 (15,2) a	84,4 (7,2) a
1:1	12,4 (1,3) b	2,61 (0,7) b	114,7 (12,0) a	72,5 (10,1) b
1:5	12,6 (2,2) b	3,10 (0,9) a	123,1 (12,1) a	91,7 (9,2) a
1:10	13,2 (3,0) a	3,10 (1,1) a	120,5 (9,3) a	91,2 (7,5) a

Los valores de vainas/planta son el promedio de 20 plantas diferentes. El peso de 1000 semillas es el correspondiente a 20 grupos de 1.000 semillas cada uno. El volumen consignado es la media de 100 semillas elegidas al azar. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. Letras diferentes significa que existe diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

Tabla 6. Efecto del riego con vinazas diluidas en soja sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos y protectores bajo distintos tratamientos.

	Cl <i>a</i> ($mg\ g^{-1}\ PS$)	Cl <i>b</i> ($mg\ g^{-1}\ PS$)	Cl <i>a</i> +Cl <i>b</i> ($mg\ g^{-1}\ PS$)	Cl <i>a</i> /Cl <i>b</i>	Carotenoides ($mg\ g^{-1}\ PS$)	Abs ₃₀₅ $mg^{-1}\ PS$	Antocianos $abs540\ g^{-1}\ PS$
Control	4,35 (0,42) a	1,14 (0,16) a	5,49 (0,57) a	3,82 (0,2) a	1,03 (0,09) a	1,05 (0,01) a	46,8 (6,7) a
1:1	3,90 (0,10) b	1,03 (0,03) a	4,93 (0,13) b	3,79 (0,1) a	0,96 (0,06) a	0,75 (0,05) b	14,5 (1,7) b
1:5	3,79 (0,34) b	1,02 (0,15) a	4,81 (0,49) b	3,72 (0,2) a	0,97 (0,08) a	1,01 (0,05) a	27,7 (8,7) b
1:10	3,89 (0,37) b	1,01 (0,11) a	4,91 (0,48) b	3,85 (0,1) a	0,99 (0,07) a	0,93 (0,16) a	28,1 (8,9) b

Cl *a*: Contenido de clorofila *a*; Cl *b*: Contenido de clorofila *b*. PS: peso seco. El valor consignado para cada isoforma de clorofila es el promedio de 5 plantas distintas y el valor entre paréntesis corresponde a la desviación estándar. Letras diferentes significa que existen diferencias significativas ($p \leq 0,05$) con el control.

DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo demuestran que el efecto de la vinaza sobre el crecimiento de plantas de soja bajo condiciones semicontroladas (invernadero) depende de la dilución de vinaza que se utilice. Los resultados concuerdan parcialmente con experiencias realizadas con la misma especie, en condiciones de campo y distintas aplicaciones de vinazas, donde se demostró que con riego superior a los 150 m³ de vinaza por hectárea, las plantas resultaban afectadas en su crecimiento, con disminuciones en la altura y diámetro de tallo (Muniz *et al.*, 2015). A diferencia de estos resultados, nuestros datos no mostraron diferencias significativas en los mismos parámetros cuando se compararon las plantas tratadas con las plantas control. Según los autores mencionados, las diferencias observadas podrían relacionarse al exceso de K presente en la vinaza sin diluir o a bajas diluciones (Muniz *et al.*, 2015). No obstante, esta posibilidad aún debe estudiarse con más detalles debido a que en las vinazas también se encuentran presentes otros iones que podrían actuar en forma individual y/o sinérgica afectando el normal desarrollo de las plantas. Por otra parte, investigaciones realizadas con plántulas de *Eucalyptus* de 90 días de edad, sometidas a riego con distintas diluciones de vinaza (15%, 30%, 45% y 60%), no solo no mostraron reducciones en el desarrollo y crecimiento de las plántulas; sino que por el contrario la altura de las mismas, el diámetro del tallo y la acumulación de biomasa aumentaron a medida que aumentaba la concentración lográndose los mayores incrementos a la concentración 60% (El Marouni *et al.*, 2016). Por otra parte, Murillo *et al.* (1998), utilizando vinaza proveniente del procesamiento de la remolacha azucarera sobre el girasol, demostró que el crecimiento de las plantas no fue afectado por la vinaza tanto en cultivos en macetas como a campo. En otras experiencias, donde se utilizó vinaza proveniente de la fabricación de tequila en distintas diluciones (25%, 50%, 75% y 90 %) para fertirrigar plantas de maíz, tampoco se encontraron efectos negativos sobre la altura de las plantas (Popolizio, 2017). Sin embargo, en relación al número de hojas se presentaron dos situaciones dependientes de la dilución. Así para diluciones al 50% y 75% el número de hojas disminuyó con respecto al control, mientras que a la dilución 90% esta variable no resultó afectada (Popolizio, 2017).

En nuestros resultados se observa también que en las diluciones 1:1 y 1:5 el número de hojas disminuyó con respecto al control, pero en la dilución 1:10 esta variable no resulta afectada. Teniendo en cuenta que el proceso de crecimiento de una planta representa el incremento de peso seco como resultado de la división, expansión y diferenciación celular (Lambers *et al.*, 1998), se puede hipotetizar que los tratamientos con vinaza en las diluciones utilizadas en este trabajo, no afectaron dichos procesos en relación a la altura de la planta y el diámetro del tallo. Sin embargo, al resultar afectado el número de hojas, surge la necesidad de estudiar la mayor o menor sensibilidad de cada órgano de la planta frente a cada dilución ensayada. Por otra parte, el AFE de las plantas de soja utilizadas en nuestro estudio sí resultó afectado por la vinaza. Al ser esta una variable que relaciona el área foliar con el peso seco, se convierte en un estimador indirecto del espesor de lámina foliar. Asimismo, la inversa del AFE o masa foliar específica (MFE) representa la inversión en carbono que la planta destina para lograr una superficie determinada de hoja. En ese sentido, el AFE y la MFE representan variables altamente sensibles al estrés y por lo consiguiente de gran utilidad para evaluar el efecto de diferentes agentes estresantes (Lambers *et al.*, 1998). Teniendo en cuenta los valores de AFE y MFE obtenidos para las plantas de soja cultivadas en presencia de vinaza, puede concluirse que las mismas se desarrollaron bajo condición de estrés impuesta por la vinaza. En general, se conoce que la salinidad provoca incrementos en el espesor de la epidermis y del mesófilo así como en el largo y diámetro de las células en hojas de diferentes especies (Longstreth & Nobel, 1979); por lo tanto, podría asumirse que en el caso de la soja la condición de estrés podría deberse al exceso de iones, principalmente cationes, presentes en la vinaza. Este estrés habría provocado en las plantas irrigadas con vinazas una mayor inversión en carbono por metro cuadrado de superficie foliar.

En relación al contenido de nitrógeno foliar se conoce que el mismo afecta, entre otros, diferentes parámetros vinculados al crecimiento de las plantas. Así puede afectar el número y tamaño de las hojas, el AFE y la producción de biomasa (Gastal & Lemaire, 2002). También se conoce que el contenido de nitrógeno del suelo está íntimamente relacionado con la cantidad de materia orgánica que posee, ya que la mineralización de esta última incrementa su

concentración (Lambers *et al.*, 1998). En nuestro caso, el suelo utilizado para las experiencias contenía un 1,6% de materia orgánica. El agregado de vinazas a altas concentraciones (como 1:1 y 1:5), con un contenido de materia orgánica promedio del 3 % pero con un pH ácido (4,8) habría producido un efecto sobre la población de microorganismos relacionados con la mineralización en el suelo. Esto a su vez habría afectado la descomposición de la materia orgánica, nitrificación (Resende *et al.*, 2006) y denitrificación (Leal *et al.* 1983) y con ello la cantidad de nitrógeno disponible detectado en este estudio. En consonancia con esta suposición, las variables relacionadas al rendimiento (número de vainas/planta, número de semillas/planta y peso de 1000 semillas), resultaron afectadas solo en el tratamiento con la menor dilución de vinaza (1:1). No obstante, cabe hacer notar que la soja es una especie fijadora de nitrógeno (leguminosa) y por lo tanto tiene la capacidad para asegurarse un buen suministro de este elemento. De este modo, resulta necesario realizar otros estudios a fin de lograr entender de manera más fehaciente el efecto de la vinaza sobre el metabolismo del nitrógeno en plantas de soja. Un punto importante a tener en cuenta es el hecho que el riego con vinazas se aplicó cada 2-3 días lo que produjo el impacto que se describe en este estudio. Quizás estos efectos podrían minimizarse si el riego con vinaza se aplicara durante el período de barbecho de los campos que se cultivan con soja, favoreciendo así la mineralización de la materia orgánica y la provisión de nitrógeno. Sin duda que esta hipótesis requiere de otros estudios de campo para tener una mejor aproximación a la temática del uso de vinazas como riego.

Si bien existen pocas referencias del efecto de la vinaza sobre el rendimiento granario y la producción de biomasa de la soja, otros cultivos como la caña de azúcar han sido bastante estudiados. Esto es así por cuanto la vinaza es uno de los principales desechos de la industria azucarera. Los resultados obtenidos mostraron, en general, que el uso de la vinaza en diferentes concentraciones, incrementa tanto la productividad como el rendimiento sacarino. Así por ejemplo en la India se encontró que la aplicación de 150 a 300 Tn h⁻¹ de vinaza incrementa los rendimientos de azúcar entre un 44% y un 53,8% respecto a los obtenidos con caña sin el agregado de este efluente (Baskar *et al.*, 2005). Resultados similares fueron comunicados

por Gómez & Rodríguez (2000) en experiencias a campo realizadas en Venezuela con caña como en azúcar. Otros estudios, realizados en Brasil, demostraron también que las vinazas incrementan la productividad de la caña de azúcar, lo que llevó a la conclusión que las mismas, bajo condiciones racionales de manejo, podrían reemplazar total o parcialmente la fertilización mineral (Paulino *et al.*, 2002; De Resende *et al.*, 2006, Prado *et al.*, 2013). Resultados beneficiosos de la vinaza sobre el cultivo de caña de azúcar también fueron obtenidos en Filipinas (Gonzales & Tianco, 1982), Australia (Usher & Wellington, 1979), Cuba (Vieira, 1982) y Argentina (Scandaliaris *et al.*, 1987). Otro cultivo que mostró incremento en los rindes culturales (fruto y aceite) por la aplicación de vinaza fue el olivo (Laila *et al.*, 2015). Sin embargo, en experiencias con vinaza de remolacha se encontró que la aplicación de 3 a 10 Tn h⁻¹ de vinaza a los cultivos de trigo incrementaba la productividad, mientras que dosis más altas (20 y 40 Tn h⁻¹) la decrecían, afectando incluso las características fisicoquímicas y textura del suelo (Tejada & González, 2005). Con relación a este último punto resulta necesario destacar que el suelo utilizado en el trabajo aquí presentado sufrió un proceso de compactación en aquellas macetas regadas con todas las diluciones de vinaza, pero fue más pronunciado en la dilución 1:1. Sin duda, este tema deberá ser profundizado con experiencias a campo y con otras experiencias que incluyan el seguimiento de las características físicas, químicas y biológicas del suelo a lo largo del tiempo durante varios años.

Algunos antecedentes sobre la influencia de la vinaza sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) no son claros y precisos, ya que los mismos muestran comportamientos diferentes según cual sea la especie estudiada y la concentración de vinaza utilizada. Así por ejemplo en *P. sativum* y *C. máxima*, se demostró que la síntesis de ambas isoformas de clorofila (*a*, *b*) resulta favorecida de igual manera por el agregado de vinaza a concentraciones bajas (0,5%); mientras que a concentraciones más elevadas (entre 1 y 10%) ocurre el efecto contrario, con disminuciones progresivas en la síntesis de dichos compuestos (Rani & Srivastava, 1990; Jain & Srivastava, 2012). Resultados similares fueron comunicados para maíz y caña de azúcar (Orhue *et al.*, 2005; Rath *et al.*, 2011). Sin embargo, nuestros resultados mostraron que ambas isoformas

resultan afectadas de manera diferente por el tratamiento con vinaza. Así mientras la clorofila *a* decrece por el agregado de vinaza la isforma *b* no resulta afectada, respecto al control. Aunque algunos autores relacionaron la disminución del contenido de pigmentos fotosintéticos con la baja disponibilidad de nutrientes esenciales que se produce por el menor desarrollo radicular (Rath *et al.*, 2011). Tal hipótesis no resultaría lo suficientemente clara en el caso de la soja, ya que nuestros resultados tampoco mostraron variaciones de significación en el contenido de carotenoides.

Con respecto a los pigmentos protectores (absorbentes de UV-B y antocianos) si bien se los relaciona principalmente con la protección frente al exceso de radiación solar (estrés lumínico), los mismos también participan en otras situaciones de estrés abiótico y biótico como sequía, salinidad, frío, enfermedades bacterianas y fúngicas, entre otros (Coley & Aide, 1989; Chalker-Scott, 2002; Eryilmaz, 2006; Hughes *et al.*, 2010). Por otro lado, los compuestos que absorben UV-B, especialmente los flavonoides (flavonas, flavanonas, isoflavonas) intervienen activamente en la formación de nódulos en las leguminosas como *P. sativum* y *G. max* (Phillips *et al.*, 1994). Considerando que nuestras experiencias se desarrollaron en invernadero ($358 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA en promedio), puede inferirse que las variaciones observadas en los pigmentos absorbentes de UV-B (reducción a baja concentración de vinaza e incremento a concentraciones altas de vinaza), podría relacionarse más con el contenido salino de la vinaza que con la protección lumínica, ya que el exceso de iones probablemente induzca un estrés osmótico en las plantas. En ese mismo contexto, la situación de estrés inducida por la vinaza a altas concentraciones podría ser el responsable de la disminución observada en el contenido de antocianos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio, con las limitaciones propias de los estudios en condiciones semicontroladas, así como los disponibles en la literatura, revelan que el uso de la vinaza en los cultivos requiere de un estudio profundo y propio para cada especie en particular, ya que el excesivo contenido de iones que la misma posee la convierte en un potencial agente

estresante para las plantas. En forma puntual este estudio demuestra que si se aplica en soja la dilución de la vinaza debería ser el igual o mayor a 1:10 (v:v). Sin embargo, un problema que persiste es que la posible aplicación agronómica de la vinaza (tanto en campo como en condiciones experimentales) es el intenso y persistente olor que se genera debido a la presencia de melanoidinas. Estos polímeros, de alto peso molecular, se forman al reaccionar los azúcares con aminoácidos o bien por la reacción entre los grupos amino y carboxilo de las sustancias orgánicas (Reynolds, 1968). Aparte de su olor, las melanoidinas tienen propiedades antioxidantes y frecuentemente son tóxicas para los microorganismos utilizados en los procesos de biotratamiento de efluentes (Kitts *et al.*, 1993). De esta manera el uso de la vinaza en procesos agronómicos también requerirá de la eliminación y/o neutralización de estos compuestos. Asimismo, se conoce que las vinazas pueden generar gases de efecto invernadero (GEI), especialmente N_2O (Oliveira *et al.*, 2013); por lo que este punto también deberá ser incluido en futuras investigaciones sobre el uso de este efluente. Finalmente, tampoco deberán dejarse de lado las alteraciones de las características fisicoquímicas y propiedades de los suelos que pueden generar el uso prolongado de la vinaza en prácticas de fertilización. La compactación de los suelos observadas en este estudio demuestra que hubo una alteración de las propiedades físicas del mismo lo que también deberá tenerse en cuenta en aplicaciones por períodos prolongados de tiempo. Finalmente, resta ensayar el riego de la soja con vinazas diluidas en campo tanto durante su desarrollo y también en época de barbecho. Esta última práctica quizás pueda eliminar los efectos directos sobre las plantas observados en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Haroldo Alemany quién proveyó las semillas de soja para desarrollar este estudio. Este trabajo fue realizado con fondos de la Fundación Miguel Lillo (Miguel Lillo 251, T4000JFE, Tucumán, Argentina) dentro del proyecto B-0006-1. "Efecto de las vinazas sobre las primeras etapas de germinación y plántulas en especies nativas e introducidas".

BIBLIOGRAFÍA

- BASKAR, M., H. GOPAL, M. S. DAWOOD & M. S. BOSE. 2005. Effect of integrated use of distillery effluent and fertilisers on soil properties and yield of sugarcane in sandy loam soil. *Madras Agric. J.* 92: 349-354.
- CÁRDENAS, G., R. M. RUÍZ & A. A. DELFINI. 1984. Estudio de algunos aniones y cationes en vinazas producidas por fermentación alcohólica de productos intermedios y subproductos de la fabricación de la caña de azúcar. *Revista Industr. y Agric. de Tucumán* 61: 1-25.
- CHALKER-SCOTT, L. 2002. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances Bot. Res.* 37: 104-129.
- CHAPPELLE, E. W., M. S. KIM. & J. E. MCMURTREY III. 1992. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for the remote estimation of the concentrations of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids in soybean leaves. *Remote Sensing Environm.* 39: 239-247.
- CHAVES SOLERA, M. A. 2004. Las vinazas en la fertilización de la caña de azúcar. *El Agricultor Costarricense.* 43: 174-177.
- COLEY, P. D. & T. M. AIDE. 1989. Red coloration of tropical young leaves: A possible antifungal defence?. *J. Trop. Ecol.* 5: 293-300.
- DANTUR, A., J. SCANDALIARIS, F. PÉREZ ZAMORA & M. A. RONCEDO. 1996. Aprovechamiento agrícola de los residuos de la agroindustria de la caña de azúcar. Parte II. El uso de la vinaza. *Avance Agroind.* 16: 38-41.
- DE RESENDE A. S., XAVIER R.P., O. C. DE OLIVEIRA, S. URQUIAGA, B. J. ALVES & R. M. BODDEY. 2006. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugar cane and soil carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, N.E. Brazil. *Pl. & Soil.* 281: 339-351.
- EL MAROUNI, L.F., J.L. MAGALHÃES, A. A. RODRIGUES, D. A. RODRIGUES, P. A. MAGALHÃES, M. S. DI CAMPOS, C. L. RODRIGUES, R. G. VITAL, T. F. CAVALCANTE, F. B. SILVA, E. M. TELES & R. G. GUIMARÃES JUNIOR. 2016. Growth of *Eucalyptus* seedlings irrigated with different vinasse concentrations. *Aust. J. of Basic & Appl. Sci.* 10: 115-121.
- ERYILMAZ, F. 2006. The relationships between salt stress and anthocyanin content in higher plants. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 20: 47-52.
- FADDA, G.S. & M. MORANDINI. 2007. El uso agrícola de la vinaza. Revisión de antecedentes y caracterización de las condiciones del área cañera de Tucumán para su aplicación. *Publicación Especial N° 33. Estación Experimental Agro-industrial Obispo Colombes.*
- GARCÍA, G., K. CÁRDENAS, M. SANABRIA, L. CASTILLO, L. ZEREGA & D. RODRÍGUEZ. 2007. Efecto de la fertilización con vinaza sobre el contenido relativo de clorofila y la morfoanatomía foliar de 3 variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). *Revista Fac. Agron. Univ. Zulia.* 24: 124-129.
- GASTAL, F. & G. LEMAIRE. 2002. N uptake and distribution in crops: An agronomical and ecophysiological perspective. *J. Exp. Bot.* 53: 789-799.
- GÓMEZ TORO, J. M. 1996. Efecto de la aplicación de vinaza en la producción y calidad de la caña de azúcar. *Caña de Azúcar* 14: 15-34.
- GÓMEZ, J. & O. RODRÍGUEZ. 2000. Effects of vinasse on sugarcane (*Saccharum officinarum*) productivity. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 17: 318-326.
- GONZALES, M. Y. & A. P. TIANCO. 1982. Effect of volume and time of application on distillery slops on the growth and yield of sugarcane. *Proceedings of 29th Annual Convention, Sugar Technology Association Ag., Philippines.* 467-490.
- GONZÁLEZ, J. A. 2000. Diagnóstico de la contaminación de la cuenca del Río Salí. Plan integral de acción para la solución de la contaminación de la cuenca del Río Salí. Cuadernos de Medio Ambiente. *Gobierno de la provincia de Tucumán. Dirección de Medio Ambiente.* 3:1-68.
- GONZÁLEZ, J. A., P. LANGUASCO & F. E. PRADO. 2014. Efecto de las vinazas sobre la germinación de soja, trigo y quinoa en condiciones controladas. *Bol. Soc. Argen. Bot.* 49: 473-481.
- HUGHES, N. M., K. REINHARDT, T. S., FEILD, A. R. GERARDI & W. K. SMITH. 2010. Association between winter anthocyanin production and drought stress in angiosperm evergreen species. *J. Exp. Bot.* 61: 1699-1709.
- JAIN, R. & S. SRIVASTAVA. 2012. Nutrient composition of spent wash and its impact on sugarcane growth and biochemical attributes. *Physio Mol Biol Plants.* 18: 95-99.
- KITTS D., WU, C. H., STICH, H. & W. POWRIE. 1993. Effects of glucose-glycine Maillard reaction products on bacterial and mamalian cell mutagenesis. *J. Agric.Food Chem.* 41: 2353
- LAILA, H. F., M.F.M. SHAHIN, N. S. MUSTAFA, H. A. MAHDY & H. S. A. HASSAN. 2015. Studies on the effect of vinasse, amino acids and humic acid substances as soil applications on fruit quality and quantity of Manzanillo olive trees. *Middle East J. App. Sci.* 5: 984-991.
- LAMBERS H., CHAPIN F. S. & T. L. PONS. 1998. Rol in ecosystem and global processes. pp: 545-552. In: *Plant Physiological Ecology.* Springer-Verlag, New York.

- LEAL, J.R., N.M.B AMARAL SOBRINHO, A.C.X. VELLOSO & R.O.P. ROSSIELO. 1983. Potencial redox e pH: variação em um solo tratado com vinhaça. *Rev. Bras. Ciên. Solo.* 7: 257-261.
- LONGSTRETH, D. J. & P. S. NOBEL. 1979. Salinity effects on leaf anatomy: consequences for photosynthesis. *Plant Physiol.* 63: 700-703.
- MADEJÓN, E., R. LÓPEZ, J. M. MURILLO & F. CABRERA. 2001. Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). *Agric. Eco-Sys. Environm.* 84: 55-65.
- MINISTERIO DE AGROINDUSTRIA. 2016. Cadena Azúcar. *Informe de Coyuntura Mensual.* N° 70, 15 pp.
- MIRECKI, R.M. & A.H. TERAMURA. 1984. Effects of ultraviolet-B irradiance on soybean. V. The dependence of plants sensitivity on the photosynthetic photon flux density during and after leaf expansion. *Plant Physiol.* 74: 475-480.
- MONTENEGRO-FERRAZ, C.A., E. AGUARONE, M. KRAUTER, W. BALLONI & G. FLORENZANO. 1986. Utilization of by-products from alcoholic fermentation industry to biomass production of *Spirulina maxima*. Part II. Use of molasses alcohol distillate waste. *Revista de Microbiología* 17: 15-21.
- MUNIZ, M. P., J. W. ZANG, W. A. DAFONSECA-ZANG, A. SCHÜCH, B. EICHLER-LOEBERMANN & W. M. LEANDRO. 2015. Soybean growth affected by the application of biodigestates from sugar cane vinasse. Management of land use systems for enhanced food security. *Conflicts, controversies and resolutions.* Tropentag, Berlin, Germany.
- MURILLO, J. M., F. CABRERA, R. LÓPEZ & P. MARTIN-OLMEDO. 1998. Sunflower response to the application of a concentrated beet vinasse. *Commun. Soil Sci. Pl. Analysis.* 29: 643-655.
- OLIVEIRA, B. G., J. L. CARVALHO, C. E. CERRI, C. C. CERRI & B. J. FEIGL. 2013. Soil greenhouse gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. *Geoderma* 200–201: 77–84.
- ORHUE, E.R., A. U. OSAIGBOVA & D. E. VWIOKO. 2005. Growth of maize (*Zea mays* L.) and changes in some chemical properties of an ultisol amended with brewery effluent. *Afr. J. of Biotechnol* 4: 973-978.
- PAULINO, A. F. C. DE, C. MEDINA, C. R. ROBAINA & R. A. LAURANI. 2002. Produções agrícola e industrial de cana-de-açúcar submetida a doses de vinhaca. *Semina: Ciências Agrárias.* 23:145-150.
- PERERA, J.G. 2009. Concentración y combustión de vinazas. *Ministerio de Gobierno y Justicia de la Provincia de Tucumán, Secretaría de Estado de Gobierno y Justicia, Subsecretaría de Asuntos Técnicos.* 1-43.
- PHILLIPS, D. A., F. D. DAKORA, E. SANDE, C. M. JOSEPH & J. ZON. 1994. Synthesis, release, and transmission of alfalfa signal to rhizobial symbionts. *Pl. & Soil.* 161: 69-80.
- POPOLIZIO, T. D. 2017. *Efecto de la aplicación de vinazas de la industria del tequila en el cultivo del maíz y en la asociación planta-hongos micorrizicos arbusculares (HMA).* Tesis de Maestría. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (México). 86 pp.
- PRADO, R. D., G. CAIONE & C. N. CAMPOS. 2013. Filter cake and vinasse as fertilizers contributing to conservation agriculture. *Applied and Environmental Soil Science.* Article ID 581984. 2013: 1-8.
- QUINTERO, R., F. SILVIO, S. CADENA, O. CARLOS & B. BRICEÑO. 2006. Proyecto de investigación sobre uso y manejo de vinazas. <http://www.cengicana.org/Portal/SubOtrasAreas/Etanol/Presentaciones/ProyectosInvestigacionSobreUsoManejo%20Vinaza.pdf>. [Acceso: 03/06/2018]
- RANI, R. & M. M. SRIVASTAVA. 1990. Eco-physiological response of *Pisum sativum* and *Citrus maxima* to distillery effluents. *Int. J. Ecol. Environ. Sci.* 16:125-132.
- RATH, P., G. PRADHAN & M. K. MISRA. 2011. Effect of distillery spent wash (DSW) and fertilizer on growth and chlorophyll content of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plant. *Rec. Res. Sci. Tech.* 3:169-176.
- REYNOLDS T. M. 1968. Chemistry of nonenzymic browning. I. The reaction between aldoses and amines. *Advances Food Res.* 12: 1.
- SANTOS, M., F. DIÁNEZ, M. DE CARA & J. C. TELLO. 2008. Possibilities of the use of vinasses in the control of fungi phytopathogens. *Bioresour. Technol.* 99: 9040-9043.
- SARRIA, P. & T. R. PRESTON 1992. Reemplazo parcial del jugo de caña con vinaza y uso del grano de soya a cambio torta en dietas de cerdos de engorde. *Livestock Research for Rural Development.* 1: 4.
- SCANDALIARIS, J., N.C. DANTUR & A. LAZARTE. 1985. Posibilidad de utilizar vinazas en el cultivo de la caña de azúcar. *Avance Agroind.* 5: 16-18.
- SCANDALIARIS, J., N. C. DANTUR & M. A. RONCEDO. 1987. Influencia de la vinaza sobre la producción de caña de azúcar y las propiedades del suelo. *Revista Industr. Agríc. Tucumán.* 64: 1-44.
- TEJADA M. & J. L. GONZÁLEZ. 2005. Beet vinasse applied to wheat under dryland conditions affects soil properties and yield. *Eur. J. Agron.* 23: 336-347.
- TEJADA M., J. L. MORENO, M.T. HERNANDEZ & C. GARCIA. 2007. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain. *Agric. Eco-Syst Environ.* 119: 289-298.

- URBANO TERRÓN, P. 2002. Fertilización orgánica con vinazas de alcoholera. *Revista Vida Rural*. 155: 50-52.
- USHER, J. F. & I. P. WILLINGTON. 1979. The Potential of Distillery Waste as Sugar Cane Fertiliser. Proceedings of the Australian Society of Sugarcane Technologists. Fertilizer. *Proceedings- Australian Society of Sugarcane Technologists*. pp. 143-146.
- VALDÉS, M. E., J. RAMOS & M. OBAYA. 1992. Definición de parámetros para el tratamiento de vinazas de destilería. *Rev. ICIDCA*. 26: 23-27.
- VIEIRA, D. B. 1982. Methods of vinasse application in sugar cane, *Saccharum APC* Sao Paulo. 5: 21-26.
- WELLBURN, A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol*. 144: 307-313.

Recibido el 10 de julio de 2018, aceptado el 10 de octubre de 2018. Editor: Federico Mollard.

REGENERACIÓN DE BULBOS DE *HIPPEASTRUM STRIATUM* Y *HABRANTHUS BRACHYANDRUS* (AMARYLLIDACEAE) SOMETIDOS A CORTE LONGITUDINAL

ORLANDO A. RODRIGUEZ MATA¹, ANA I. HONFI^{1,*} y JULIO R. DAVIÑA¹

Summary: Regeneration of bulbs of *Hippeastrum striatum* and *Habranthus brachyandrus* (Amaryllidaceae) subjected to longitudinal cutting. As an alternative for increasing the vegetative propagation of two ornamental promising species, *Hippeastrum striatum* and *Habranthus brachyandrus*, the capacity of vegetative regeneration of bulbs subjected to cut, was analyzed. For both species the number of bulblets was greater when the mother bulb was cut. In *H. striatum* 13 - 20 regenerated bulblets were obtained with diameters between 1.02 and 1.16 cm ($x = 1.09$ cm). In *H. brachyandrus* 16 - 23 new bulblets were obtained with diameters between 0.87 and 0.94 cm ($x = 0.91$ cm). The number of leaves in new bulblets varied between 5 to 0 leaves/bulb in *H. striatum* and between 3 to 0 in *H. brachyandrus*. For bulbs that were not subjected to cutting (control treatment), there was no production of bulblets in *H. brachyandrus*, instead, in *H. striatum* smaller size bulblets were obtained without signs of leaves development. The mechanical induction of bulblet development from mother bulbs, had a highly significant effect in the variables evaluated, stimulating the activation of basal scale buds giving rise to an asexual progeny of clonal origin.

Key words: Amaryllidaceae, Asexual progeny, bulblets, vegetative propagation.

Resumen: La capacidad de regeneración vegetativa de bulbos de *Hippeastrum striatum* y *Habranthus brachyandrus* sometidos a corte longitudinal, fue analizada como alternativa para la propagación vegetativa de estas especies ornamentales promisorias. En ambas, el número de bulbillos hijos producido fue mayor cuando el bulbo madre fue cortado. En *H. striatum* se regeneraron entre 13 y 20 bulbillos con diámetros que variaron entre los 1,02 cm y 1,16 cm ($x = 1,09$ cm). En *H. brachyandrus* se obtuvieron de 16 a 23 bulbillos con diámetros que variaron entre los 0,87 cm y 0,94 cm ($x = 0,91$ cm). La cantidad de hojas en los bulbillos regenerados varió entre 5 y 0 hojas/bulbillo en *H. striatum* y entre 3 y 0 en *H. brachyandrus*. Los bulbos que no fueron sometidos a corte (tratamiento control), no produjeron bulbillos en *H. brachyandrus*, en cambio en *H. striatum* se obtuvieron bulbillos de menor tamaño sin indicios de desarrollo de hojas. La inducción mecánica a través de corte longitudinal en los bulbos tuvo un efecto altamente significativo en las variables evaluadas, estimulando el proceso de activación de las yemas basales de las escamas originando la progenie asexual de origen clonal.

Palabras clave: Amaryllidaceae, bulbillos, Progenie asexual, propagación vegetativa.

INTRODUCCIÓN

La reproducción asexual en plantas y el origen de progenie genéticamente idéntica a la madre, ocurre con diferentes modalidades, como apomixis (agamosperma), embrionía adventicia, y multiplicación o propagación vegetativa a través

del desarrollo de estolones, caules subterráneos o rizomas, bulbos, tubérculos, yemas foliares, entre otros (Hartmann & Kester, 1975; De Abate, 1999; Batygina, 2009). Los bulbos son conocidos como caules especializados para el almacenamiento de reservas y poseen yemas con capacidad de formación de bulbos hijos, que resultan clones de

¹ Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal, Instituto de Biología Subtropical (CONICET-UNaM), nodo Posadas, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Rivadavia 2370, 3300 Posadas, Misiones.

* ahonfi@gmail.com

la planta madre (Raven *et al.*, 2007; Batygina, 2009; Baranova, 2009). La presencia de bulbos no es muy frecuente en la naturaleza, se conocen aproximadamente 3000 especies con bulbos, confinadas a monocotiledóneas, en particular a Alliaceae, Amaryllidaceae, Calochortaceae, Hyacinthaceae, Iridaceae, Liliaceae y Melanthiaceae (Baranova, 2009). Muchas de las especies bulbosas han sido utilizadas desde la antigüedad por sus cualidades económicas (ornamentales, farmacéuticas, alimentarias, entre otras) y constituyen recursos genéticos de importancia para la conservación biológica dado que sus poblaciones naturales han sido depauperadas. Las estrategias más eficientes que permitan la multiplicación del material vegetal para su óptimo aprovechamiento económico, y simultáneamente evite mermar las poblaciones silvestres, resulta prioritario en especies nativas de Amaryllidaceae (Honfi & Daviña, 2015; Honfi *et al.*, 2017). La cualidad bulbífera, es decir, la multiplicación vegetativa mediante bulbillos hijos, es un carácter presente en varias especies de la familia, pero no es un atributo común de todas las especies (Leszczyńska-Borys & Borys, 2001; Schiappacasse *et al.*, 2003). La producción de plantas a partir de bulbos es un procedimiento frecuente, pero es lento (Hartmann *et al.*, 1990). En especies de interés económico, donde se pretende incrementar la disponibilidad de plantines para la implantación de cultivos a cierta escala de producción, la multiplicación clonal de genotipos selectos, resulta un aspecto crucial a la hora de introducir materiales a planes de domesticación o mejoramiento genético.

Entre las plantas bulbosas nativas sudamericanas, las especies de los géneros *Habranthus* Herb., *Hippeastrum* Herb. y *Zephyranthes* Herb. (Amaryllidaceae), son particularmente utilizadas como plantas ornamentales, y en ciertos casos, como fuentes de fitoproductos, específicamente alcaloides de interés medicinal y farmacéutico (Ortiz *et al.*, 2012, 2016; Honfi & Daviña, 2015; Honfi *et al.*, 2017). *Hippeastrum* es un género de bulbosas nativas de América tropical y subtropical, cuya mayor diversidad se encuentra al este de Brasil y en los Andes orientales de Bolivia, Perú y Argentina (Meerow & Snijman, 1998; Meerow *et al.*, 2000; Daviña, 2001; Dutilh, 2005; Oliveira, 2017). *Hippeastrum striatum* (Lam.) H. E. Moore es una especie con hojas deciduas, que presenta un

escapo con dos a cuatro flores, generalmente de color naranja, a veces con tonos salmón, o más rojizos (Dutilh, 2005). Se distribuye en Brasil austral, Paraguay, Uruguay y Argentina, en nuestro país principalmente en Tucumán, Misiones, Corrientes, Entre Ríos y Buenos Aires (Arroyo-Leuenberger, 1996), en cercanías de los ríos Uruguay, Paraná y de La Plata (Arroyo-Leuenberger, 1996; Hurrell *et al.*, 2005). *Habranthus* también es un género de bulbosas perennes originarias de América, presenta amplia distribución, abarcando partes del sur de Norteamérica, Centroamérica, y su mayor diversidad se encuentra en Sudamérica (Arroyo, 1990; Meerow & Snijman, 1998; Meerow *et al.*, 2000; Amaral Lopes & Barbosa Cavalcanti, 2015). *Habranthus brachyandrus* (Baker) Sealy es una especie con hojas deciduas, presenta un escapo unifloro, con las flores de color rosado intenso y el centro más oscuro, florece principalmente en verano y se cultiva con fines ornamentales en diversos países del mundo (Jitsuno *et al.*, 2009). Las poblaciones naturales se encuentran principalmente en Brasil, Uruguay, Paraguay y Argentina, en nuestro país con presencia importante en Chaco, Córdoba, Corrientes, Misiones, Formosa, Santa Fe y San Luis (Ravenna, 1967, 1974; Herklots, 1980; Arroyo, 1990).

Las dos especies mencionadas son adecuadas para su explotación con fines ornamentales (Leszczyńska-Borys & Borys, 2001; Vargas *et al.*, 2006) y para la obtención de fitoproductos (Dutilh, 2005; Vargas *et al.*, 2006; Jitsuno *et al.*, 2009), rasgos que las convierten en potenciales nuevos cultivos. Cuando la multiplicación natural no es suficiente, bien sea por la baja producción de semillas viables, por la poca actividad multiplicadora del bulbo madre, o simplemente porque se pretende aumentar la escala de producción, la inducción mecánica para generar nuevos bulbillos ha sido un método efectivo de bajo costo y alta eficiencia en diversas especies (Andrade-Rodríguez *et al.*, 2015; Padilla *et al.*, 2016). Este consiste en la realización de algún tipo de incisión en el bulbo, generalmente basales, para extirpar una porción de bulbo o dividirlo por la mitad (Daviña, 2001), de modo que las lesiones causadas estimulen la formación de bulbillos hijos (Sganzerla, 1973). El objetivo del presente trabajo es analizar la capacidad de regeneración vegetativa de bulbos de *Hippeastrum striatum* y *Habranthus brachyandrus* sometidos a inducción mecánica a través de corte longitudinal.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el banco de germoplasma del programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal, del Instituto de Biología Subtropical (IBS-CONICET-UNaM), en un vivero construido a cielo abierto donde las plantas se cultivan en macetas, ubicado en Posadas, Misiones, Argentina. El clima local es subtropical húmedo. Las lluvias anuales rondan los 3000 mm, con una elevada humedad ambiental (humedad relativa promedio anual: 74%) (National Oceanic and Atmospheric Administration, 2018). Las temperaturas son templadas en invierno con un promedio de 15°C, hay días durante los meses de junio-agosto en donde se registran temperaturas por debajo de los 10°C. El verano tiene una temperatura promedio de 30°C, que en ocasiones supera los 38°C (Servicio Meteorológico Nacional, 2018). La experiencia se realizó entre los meses de septiembre de 2017 y marzo de 2018. El cultivo se mantuvo únicamente con riego, sin agregado de fertilizantes.

Material biológico

Se utilizaron bulbos madres maduros de diferentes diámetros (Tablas 1 y 2). Se consideraron como bulbos maduros a aquellos que florecieron un año antes del ensayo (Figs. 1A; 2A). Los ejemplares de referencia se encuentran depositados en el herbario de la Universidad Nacional de Misiones (MNES). Los bulbos de *H. striatum* proceden de la accesión *OR11* proveniente de ARGENTINA, Prov. Misiones: Dpto. Capital, Posadas, 23/2/2017, (S 27° 22' 38,9", WO 55° 53' 38,8") y los de *H. brachyandrus* pertenecen a la accesión *OR02*, Prov. Misiones: Dpto. Capital, Posadas, 09/2/2017, (S 27° 21' 33.65", WO 55° 53' 30,58").

Ensayos

Inicialmente, los bulbos fueron despojados de sus hojas y lavados primero con agua común, y después con agua destilada. Usando un calibre de Vernier se midió el diámetro en centímetros. Se procedió a cortar cada bulbo de forma longitudinal, obteniendo dos

Tabla 1. Análisis de la capacidad regenerativa en bulbos de *Hippeastrum striatum*.

Tratamiento	Individuo	Ø Bulbo Madre cm	Long, Bulbo Madre cm	Nº Bulbillos	Ø bulbillo * cm	Long, bulbillo * cm	Nº hojas *
<i>Hippeastrum striatum</i> (corte)	1	5,76	5,60	20	1,02	1,26	1,65
	2	3,90	3,50	16	1,09	1,21	1,30
	3	3,70	3,40	13	1,16	1,24	1,60
	4	5,10	4,80	19	1,05	1,15	1,65
	5	4,80	4,30	17	1,06	1,19	1,65
	6	3,35	3,00	15	1,14	1,22	1,80
	7	3,42	3,10	-	-	-	-
	8	4,75	4,30	16	1,11	1,23	1,40
	9	4,20	3,90	16	1,12	1,20	1,40
	10	3,62	3,15	-	-	-	-
Promedio		4,26	3,91	17	1,09	1,21	1,56
<i>Hippeastrum striatum</i> (control)	1	4,30	3,90	12	0,80	0,60	0
	2	3,90	3,80	9	0,50	0,80	0
	3	4,00	3,50	8	0,40	0,70	0
	4	3,60	3,50	7	0,30	0,20	0
	5	3,80	3,00	8	0,30	0,20	0
Promedio		3,92	3,54	9	0,46	0,50	0

Ø: Diámetro, Long.: Longitud, Nº: Número, *: Valor promedio, cm: Centímetros.

Tabla 2. Análisis de la capacidad regenerativa en bulbos de *Habranthus brachyandrus*.

Tratamiento	Individuo	Ø Bulbo Madre cm	Long, Bulbo Madre cm	N° Bulbillos	Ø bulbillo * cm	Long, bulbillo * cm	N° hojas *
<i>Habranthus brachyandrus</i> (corte)	1	2,20	2,80	21	0,89	2,08	1,24
	2	2,35	3,10	20	0,89	2,31	1,20
	3	3,00	3,40	16	0,94	1,73	1,18
	4	2,60	4,60	17	0,91	2,00	1,00
	5	2,90	3,20	17	0,92	2,18	1,00
	6	2,14	2,70	23	0,87	1,97	1,00
	7	2,60	3,00	16	0,94	1,88	1,30
	8	3,30	3,50	16	0,94	2,00	1,24
	9	2,50	3,00	19	0,91	1,90	1,24
	10	3,00	3,80	16	0,93	1,95	1,20
Promedio		2,66	3,31	18	0,91	2,00	1,16
<i>Habranthus brachyandrus</i> (control)	1	2,80	3,00	0	-	-	
	2	3,00	3,50	0	-	-	
	3	2,60	4,30	0	-	-	
	4	2,40	3,10	0	-	-	
	5	2,75	3,20	0	-	-	
Promedio		2,71	3,42				

Ø: Diámetro, Long.: Longitud, N°: Número, *: Valor promedio, cm: Centímetros.

mitades aproximadamente iguales, procurando tener la misma proporción de disco basal en cada sección (Figs. 1B; 2B). Para obtener mayor precisión en los cortes se utilizó un cuchillo de hoja de cerámica. Los bulbos seccionados de *H. striatum* se plantaron en macetas de 7,0 cm de diámetro por 8,5 cm de altura. A los 45 días se fotografiaron los bulbos con brotes (Fig. 1C). Los bulbos cortados de *H. brachyandrus* se plantaron en bandejas rectangulares de 20 cm de largo por 15 cm de ancho, a razón de 3 bulbos por bandeja, emparejando las mitades de un mismo individuo. A los 45 días se fotografiaron los bulbos con brotes (Fig. 2C) y a los 3 meses se trasplantaron las mitades de bulbo con brotes a macetas más grandes de 12 cm de diámetro por 10 cm de altura. Se empleó como sustrato una mezcla de proporción 3:2:1 de tierra, arena y sustrato profesional compuesto de turba de musgo *Sphagnum* de fibras medias, compost de corteza, cal calcita, cal dolomita y agentes humectantes. El riego fue suministrado cada 48 hs durante las

primeras dos semanas después de plantadas las mitades. Luego de los 15 días se regaron 2 veces por semana hasta completar el primer mes. A los 30 días el riego se realizó una vez por semana. Se regó más frecuentemente según aumentaban las temperaturas con la cercanía del verano. Como tratamiento control se sembraron bulbos maduros enteros, en las mismas condiciones que los sometidos a corte.

Diseño experimental

Se estableció un diseño completamente al azar con 10 repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por un bulbo, seccionado en dos partes. El monitoreo se realizó semanalmente. A los 6 meses (Figs. 1D; 2D) se hizo la evaluación final de las variables de estudio (Figs. 1E; 2E).

Variables de estudio

Las variables evaluadas fueron: número de bulbillos generados por cada bulbo madre, longitud

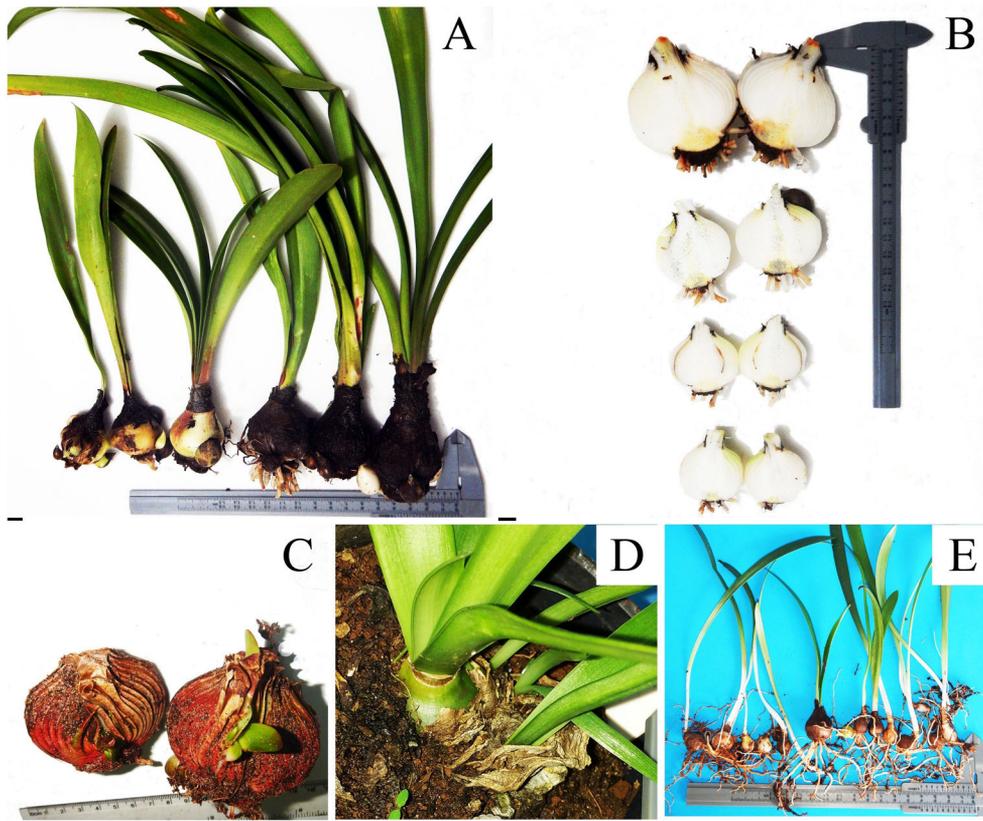


Fig. 1. *Hippeastrum striatum*. **A:** Bulbos madre. **B:** Bulbos cortados **C:** Brotes de los bulbos cortados a los 45 días posteriores al corte. **D:** Bulbillos hijos de bulbos cortados a los seis meses. **E:** Detalle de los nuevos clones a los 6 meses de ensayo. Escalas: **A-C:** 2 cm; **D:** 1 cm; **E:** 5cm.

y diámetro promedio de bulbillos y número de hojas de los bulbillos generados. Los datos obtenidos fueron examinados mediante análisis de varianza, prueba de comparación de medias y regresión simple, usando STATGRAPHICS Centurión XVII.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inducción bulbífera mecánica a través del corte longitudinal en el bulbo madre tuvo un efecto altamente significativo ($p \leq 0.05$) en la producción de nuevos bulbillos (Tablas 1-3). *Hippeastrum striatum* y *Habranthus brachyandrus* producen naturalmente bulbillos hijos. Los bulbos de *H. striatum* son subglobosos, prolíficos, de 4-8 cm de diámetro, y presentan colores en tonos castaño-negruzcos (Hurrell *et al.*, 2005). Los bulbos de *H. brachyandrus* también son subglobosos,

apenas deprimidos, de 2-3,3 cm de diámetro, frecuentemente alargados, y presentan colores en tonos castaños oscuros a negros (Hurrell *et al.*, 2005). En los ensayos con, *H. brachyandrus*, las unidades de estudios resistieron el corte en el 100% de los casos. En *H. striatum* las unidades de estudio resistieron el corte en el 80% de los casos: dos de los diez bulbos cortados murieron durante el desarrollo del ensayo y fueron los de menor tamaño.

Número de bulbillos producidos por cada bulbo madre

En ambas especies el número promedio de bulbillos hijos fue mayor respecto de los testigos (Tablas 1 y 2). En los bulbos cortados de *H. striatum*, el rango de producción fue de 13 a 20 nuevos bulbillos por cada bulbo madre, que representa en promedio 87,5% más producción respecto del control, cuyo rango de producción fue

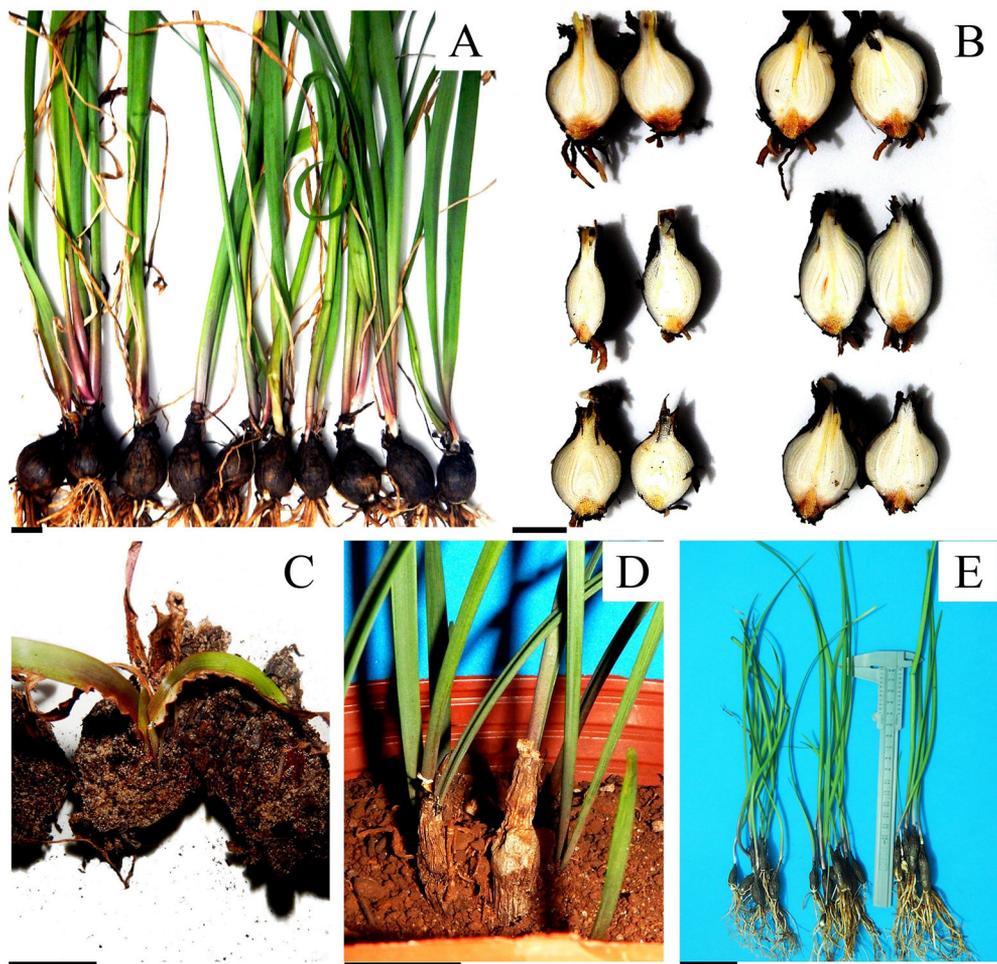


Fig. 2. *Habranthus brachyandrus*. **A:** Bulbos madre. **B:** Bulbos cortados **C:** Brotes de los bulbos cortados a los 45 días posteriores al corte. **D:** Bulbillos hijos de bulbos cortados a los seis meses. **E:** Detalle de los nuevos clones a los 6 meses de ensayo. Escalas: **A-C:** 2 cm; **D:** 1 cm; **E:** 5cm.

Tabla 3. Resumen estadístico de bulbillos producidos en *Hippeastrum striatum*.

Estadístico	N° bulbillos corte	N° bulbillos control
Promedio	16,5	8,8
Mediana	16	8
Desviación Estándar	2,20389	1,92354
Coefficiente de Variación	13,36%	21,86%
Error Estándar	0,779194	0,860233
Mínimo	13	7
Máximo	20	12
Rango	7	5
Sesgo Estandarizado	0,246559	1,38526
Curtosis Estandarizada	0,0615308	1,19027
Valor-P Comparación de medias		0,00004992

de 7 a 12 nuevos bulbillos por bulbo madre (Tabla 1). En los bulbos cortados de *H. brachyandrus* el rango de producción fue de 16 a 23 nuevos bulbillos por bulbo madre (Tabla 2). En el tratamiento control de *H. brachyandrus* no hubo producción de nuevos bulbillos. En general, la formación de nuevos bulbillos fue siempre menor en los bulbos que fueron plantados enteros (tratamiento control). Los resultados indican que los cortes realizados estimularon el desarrollo vegetativo y una mayor producción de bulbillos. De modo similar, Ephrath *et al.* (2001), señalan que en *Hippeastrum hybridum*, var. Red Lion, se obtuvo mayor número de bulbillos al aumentar la cantidad de secciones en que se dividió el bulbo madre. También, la cantidad de bulbillos hijos puede estar relacionada con el tamaño del bulbo maduro de la especie, así, por ejemplo, en especies de *Hymenocallis* Salisb., se obtuvieron de 21 a 40 bulbillos/ bulbo, durante la propagación clonal estimulada por cortes (Leszczyńska *et al.*, 2005). En nuestro caso, en ambas especies la cantidad de bulbillos clonales fue mayor en los ensayos con cortes, con una relación estadísticamente significativa entre el diámetro del bulbo madre y la cantidad de bulbillos producidos. En *H. striatum*

la correlación es positiva (Fig. 3A), y existe además, una relación significativa entre el diámetro del bulbo madre y su longitud (Fig. 3B). En cambio, en *H. brachyandrus* la correlación entre el diámetro del bulbo madre y la cantidad de bulbillos producidos es negativa (Fig. 4A), y no existe una relación significativa entre el diámetro del bulbo madre y su longitud (Fig. 4B), posiblemente debido a que el aumento del tamaño de los bulbos de esta especie ocurre en sentido longitudinal más que en sentido radial, razón por la cual son más o menos alargados independientemente del diámetro.

Los resultados sugieren para ambas especies que la inducción bulbífera a través del corte estimuló el crecimiento de las yemas basales de las catáfilas, y la emergencia de los bulbillos en cada sección. El daño provocado al cortar el bulbo y la inhibición de la dominancia de la yema principal serían los responsables de estimular la activación de las yemas basales. Sganzerla (1973), señala que diferentes tipos de cortes en el bulbo, incluso extirpar una porción de bulbo, o seccionarlo a la mitad, induce la activación de las yemas a través de un mecanismo hormonal en algunas bulbosas con flores. En el tratamiento control, la yema principal permaneció intacta y se produjo menor número de

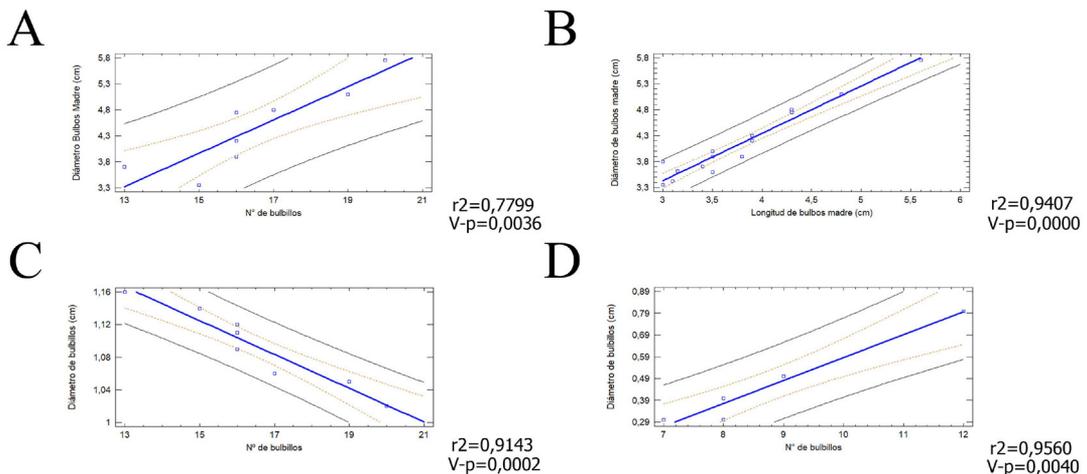


Fig. 3. *Hippeastrum striatum*. **A:** Regresión lineal del diámetro del bulbo madre vs número de bulbillos producidos (tratamiento corte). **B:** Regresión lineal del diámetro vs longitud de los bulbos madre. **C:** Regresión lineal del número de bulbillos producidos vs diámetros (tratamiento corte). **D:** Regresión lineal del número de bulbillos producidos vs diámetros (tratamiento control). Las líneas externas representan los límites de predicción, las líneas punteadas representan los límites de confianza, la línea central es la pendiente del modelo ajustado. El nivel de significancia de los límites de confianza y de predicción es del 95%.

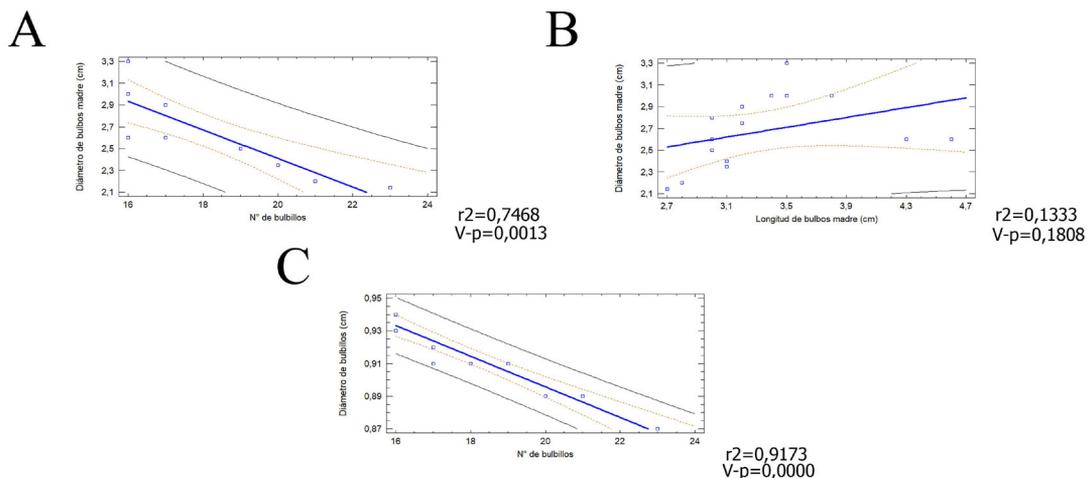


Fig. 4. *Habranthus brachyandrus*. **A:** Regresión lineal del diámetro del bulbo madre vs número de bulbillos producidos (tratamiento corte). **B:** Regresión lineal del diámetro vs longitud de los bulbos madre. **C:** Regresión lineal del número de bulbillos producidos vs diámetros (tratamiento corte). Las líneas externas representan los límites de predicción, las líneas punteadas representan los límites de confianza, la línea central es la pendiente del modelo ajustado. El nivel de significancia de los límites de confianza y de predicción es del 95%.

nuevos bulbillos en *H. striatum* y no se produjeron en *H. brachyandrus*. Azcón-Bieto & Talón (2008), indican que se ha comprobado que la yema apical puede inhibir el transporte polar de la auxina endógena hacia las yemas laterales, transporte que sería indispensable para su crecimiento, dado que estos reguladores estimulan el crecimiento de la planta madre e inhiben el crecimiento de las yemas laterales. Schiappacasse *et al.* (2003), observaron que los bulbos no divididos de *Phycella australis* (Ravenna) aumentaron de tamaño, pero fueron prácticamente incapaces de originar bulbillos. Sin embargo, la eliminación de la yema principal en bulbos de *Ornithogalum* L., estimuló una mayor producción de bulbillos (Kariuki, 2008). Del mismo modo, en los bulbos control de *H. striatum* y *H. brachyandrus*, cuya yema principal del bulbo se mantuvo intacta, es posible que la dominancia apical haya inhibido el crecimiento de las yemas internas presentes entre los catáfilos.

Características de los bulbillos

En los bulbos cortados de *H. striatum* los nuevos bulbillos producidos alcanzaron diámetros que variaron entre los 1,02 y 1,16 cm ($x = 1,09$ cm) al cabo de 6 meses de desarrollo (Tabla 1). Por su parte, en los bulbos cortados de *H. brachyandrus*, los

nuevos bulbillos alcanzaron diámetros que variaron entre los 0,87 y 0,94 cm ($x = 0,91$ cm) en el mismo tiempo de desarrollo (Tabla 2). Las diferencias entre ambas están relacionadas al tamaño promedio habitual de los bulbos maduros propios de cada especie. En ambas especies se observó que a mayor número de bulbillos generados por bulbo madre, cada uno de éstos, presentó menor diámetro promedio, indicando una correlación negativa ($p \leq 0.05$) (Figs. 3C; 4C). Hanks (1993) menciona que existe una relación inversa entre el tamaño y el número de los bulbillos producidos, en especies del género *Narcissus* L. También en este mismo sentido, en *Hippeastrum hybridum*, var. Red Lion, se observó que, al desarrollarse menor número de bulbillos, hubo mayor cantidad de reservas disponibles para que pudieran lograr un mayor crecimiento (Ephrath *et al.*, 2001). En nuestro ensayo, se observó que los bulbos enteros de *H. striatum* produjeron bulbillos de menor diámetro promedio respecto de los bulbillos formados en los bulbos cortados (Tabla 1), posiblemente debido a que, en bulbos enteros se expresó el efecto dominante de la yema principal del bulbo madre. Aun así, en este caso (control), la correlación entre el número de bulbillos y el diámetro de los mismos es positiva ($p \leq 0.05$) (Fig. 3D), a diferencia de

la correlación negativa obtenida en los bulbillos del tratamiento corte (Fig. 3C). Estos resultados sugieren que a mayor cantidad de nuevos bulbillos menor cantidad de reservas disponibles para que éstos puedan robustecerse.

En *H. striatum* se obtuvieron bulbillos cuyas longitudes variaron entre los 1,15 cm y 1,26 cm, con promedio de 1,21 cm (Tabla 1). En *H. brachyandrus*, se obtuvieron longitudes que variaron entre los 1,73 cm y 2,31 cm, con promedio de 2,00 cm (Tabla 2). En ambas especies, la mayor longitud se presentó en bulbillos de bulbos cortados, respecto al control. Coincidiendo con Padilla *et al.* (2016), quienes observaron en el género *Zephyranthes* que los bulbillos de menor longitud correspondieron a los bulbos plantados enteros. Al igual que en la variable anterior, el efecto dominante de la yema principal en los bulbos control, pudieron haber retrasado el crecimiento de los nuevos individuos.

En ambas especies se produjeron hojas solamente en los bulbillos de los bulbos cortados. La cantidad varió entre 0-5 hojas en *H. striatum* con promedio de 1,56 hojas/bulbillo (Tabla 1) y entre 0-3 en *H. brachyandrus* con promedio de 1,16 hojas/bulbillo (Tabla 2). En los ensayos control, solo *H. striatum* produjo nuevos bulbillos y estos no mostraron desarrollo de hojas.

CONCLUSIONES

La inducción bulbífera mecánica a través de cortes, aplicados en bulbos de *H. striatum* y *H. brachyandrus* estimulan el proceso de activación de las yemas basales del bulbo madre, provocando la aparición de nuevos bulbillos clonales, y, representa una alternativa para la propagación vegetativa rápida y poco onerosa de estas especies promisorias. Es una herramienta valiosa a tener en cuenta a la hora de implementar planes de conservación, mejoramiento, aprovechamiento comercial con fines ornamentales, obtención de fitoproductos u otros usos, que requieran multiplicación a gran escala.

BIBLIOGRAFÍA

AMARALLOPES, A. C. & T. BARBOSA CAVALCANTI. 2015. *Habranthus* (Amaryllidaceae) do Brasil. *Rodriguésia* 66: 203-220.

- ANDRADE-RODRÍGUEZ, M., D. GUILLÉN, O. VILLEGAS, J. J. AYALA, V. LÓPEZ & J. VARGAS. 2015. Forma de corte del bulbo para la propagación de mancuernilla (*Hippeastrum hybridum* Hort.). *Revista Chapingo Ser. Hort.* 21: 57-69.
- ARROYO, S. 1990. *Habranthus* (Amaryllidaceae) en Argentina y Uruguay. *Parodiana* 6: 11-30.
- ARROYO-LEUENBERGER, S. C. 1996. Amaryllidaceae. En: ZULOAGA F. & O. MORRONE (eds.), Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina I. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 60: 90-100.
- AZCÓN-BIETO, J. & M. TALÓN. 2008. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. MC Graw Hill Interamericana. Madrid.
- BARANOVA, M. B. 2009. Bulbs, bulblet and bulbils. In: BATYGINA B. (ed.), *Embryology of Flowering Plants*, pp. 239-244. Science Publishers, New Hampshire.
- BATYGINA, T. B. 2009. Reproduction, propagation and renewal. In: BATYGINA B. (ed.), *Embryology of Flowering Plants*, pp. 15-19. Science Publishers, New Hampshire.
- DAVIÑA, J. R. 2001. *Estudios citogenéticos en algunos géneros argentinos de Amaryllidaceae*. Universidad Nacional de Córdoba. Tesis Doctoral, 184 pp.
- DE ABATE, J. 1999. *Biología Aplicada*. 3a. ed. EUNED, San José, Costa Rica.
- DUTILH, J. H. A. 2005. Ornamental bulbous plants of Brazil. *Acta Hort.* 683: 37-42.
- EPHRATH, J. E., J. BEN-ASHER, F. BARUCHIN, C. ALEKPEROV, E. DAYAN & M. SILBERBUSH. 2001. Various cutting methods for the propagation of *Hippeastrum* bulbs. *Biotronics* 30: 75-83.
- HANKS, G. 1993. *Narcissus*. In: DE HERTOGH, A. & M. LE NARD (Eds.). *The physiology of flower bulbs*, pp. 463-558, Elsevier. Amsterdam.
- HARTMANN, H. D. & KESTER, D. E. 1975. *Propagación de plantas: principios y prácticas*. 4a. ed. Compañía Editorial Continental, México.
- HARTMANN, H. T., D. E. KESTER, F. T. DAVIES & R. GENEVE. 1990. *Plant propagation: principles and practices*. Englewood Cliffs, Prentice-Hall. New Jersey.
- HERKLOTS, G. A. C. 1980. Wind flowers: part 2. *Habranthus*. *Plantsman* 2: 90-99.
- HONFI, A. I. & J. R. DAVIÑA. 2015. Flora de Interés Forrajero y Ornamental de Campo San Juan. En: BAUNI V. & M. A. HOMBERG (eds.), *Reserva Natural Campo San Juan*, pp. 53 - 68. Editorial Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- HONFI, A. I., A. D. BOLZÁN & J. R. DAVIÑA. 2017. Dimensión Cromosómica. *Ci. & Invest. AAPC.* 67: 5-24.
- HURRELL, J. A., D. H. BAZZANO & G. DELUCCHI. 2005. *Biota Rioplatense X Monocotiledóneas Herbáceas Nativas y Exóticas*. 1ª. Ed. LOLA. Buenos Aires.

- KARIUKI, W. 2008. Rapid multiplication of *Ornithogalum saundersiae* Bak. through bulblet production *in vivo*. *Acta Hort.* 766: 135-141.
- LESZCZYŃSKA-BORYS, H. & W. M. BORYS. 2001. *Plantas bulbosas para flor de corte, macetas, jardines y parques*. SIZA-CONACYT-UPAEP-FUPPUE. México.
- LESZCZYŃSKA, H., W. M. BORYS & S. J. GALVÁN. 2005. Cloning of the *Hymenocallis*. *Acta Hort.* 673: 691-697.
- JITSUNO, M., A. YOKOSUKA, H. SAKAGAMI & Y. MIMAKI. 2009. Chemical constituents of the bulbs of *Habranthus brachyandrus* and their Cytotoxic Activities. *Chem. Pharm. Bull.* 57: 1153-1157.
- MEEROW, A. W. & SNIJMAN D. A. 1998. *The families and genera of vascular plants. Vol. 3, Monocotyledons: Liliaceae (except Orchidaceae)*, 83-110. Royal Botanic Gardens edition. Berlin: Springer-Verlag.
- MEEROW, A. W., M. W. CHASE, C. L. GUY, Q. B. LI, D. SNIJMAN & S. Y. YANG. 2000. Phylogeny of Amaryllidaceae: molecules and morphology. In: WILSON K. & D. MORRISON (eds.), *Monocots, systematics and evolution*, pp. 368-382. CSIRO, Sidney.
- NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION. Posadas Aero Climate Normals 1961-1990. Disponible en: <ftp://ftp.atdd.noaa.gov/pub/GCOS/WMO-Normals/TABLES/REGIII/AG/87178.TXT> [Acceso: 16 marzo 2018].
- OLIVEIRA, R., J. D. URDAMPILLETA & J. H. A. DUTILH. 2017. A new *Hippeastrum* (Amaryllidaceae) species from Brazil. *Phytotaxa* 307: 147-152.
- ORTIZ, J. E., N. B. PIGNI, S. A., ANDUJAR, G., ROITMAN, F. D., SUVIRE, R. D., ENRIZ, A., TAPIA, J., BASTIDA & G. E. FERESIN. 2016. Alkaloids from *Hippeastrum argentinum* and their Cholinesterase-Inhibitory Activities: An *in Vitro* and *in Silico* Study. *J. Nat. Prod.* 79: 1241-1248.
- ORTIZ, J. E., S. BERKOV, N. B. PIGNI, C. THEODULOZ, G. ROITMAN, A. TAPIA, J. BASTIDA & G. E. FERESIN. 2012. Wild Argentinian Amaryllidaceae, a new renewable source of the Acetylcholinesterase inhibitor Galanthamine and other alkaloids. *Molecules*, 17: 13473-13482.
- PADILLA, A., M. ANDRADE, I. TEJACAL, O. VILLEGAS & D. GUILLÉN. 2016. Vegetative and sexual propagation of mayito (*Zephyranthes fosteri* Traub and *Zephyranthes lindleyana* Herb.) (Amaryllidaceae). *Acta Agrícola y Pecuaria* 2: 34-42.
- RAVEN, P.H., EVERT & R.F., EICHHORN, S.E. 2007. *Biología vegetal* 7ma. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- RAVENNA, P. F. 1967. Sillent Hill Contribuições ao estudo das Amaryllidaceae da América do Sul. *Sellowia* 19: 25-36.
- RAVENNA, P. F. 1974. Contributions to South American Amaryllidaceae VI. *Pl. Life* 30: 29-79.
- SCHIAPPACASSE, F., P. PEÑAILILLO & P. YAÑEZ. 2003. *Propagación de bulbosas chilenas ornamentales*. Editorial Universidad de Talca. Chile.
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. Valores Medios de Temperatura y Precipitación-Misiones: Posadas. Consultado. Disponible en: <https://www.smn.gov.ar/caracterizaci%C3%B3n-estad%C3%ADsticas-de-largo-plazo> [Acceso: 16 marzo 2018].
- SGANZERLA, M. 1973. *Flores de bulbo, cómo cultivarlas*. 3a Ed. Vecchi. Barcelona, España.
- VARGAS, T.E., M. OROPEZA & E. DE GARCÍA. 2006. Propagación *in vitro* de *Hippeastrum* sp. *Agron. Trop.* 56: 621-626.

Recibido el 13 de agosto de 2018, aceptado el 23 de octubre de 2018. Editor: Federico Mollard.

ASPECTOS REPRODUCTIVOS DE *SCHINUS AREIRA* (ANACARDIACEAE)

MARÍA A. ZAPATER¹, MARÍA M. ALEMÁN, EVANGELINA C. LOZANO, VICTOR H. AQUINO, CAROLINA B. FLORES, MIRIAM N. GIL, JOHANA VILLADA y GUSTAVO ARAYA

Summary: Reproductive aspects of *Schinus areira* (Anacardiaceae). *Schinus areira* is a naturalized tree in northwestern and western Argentina, and extensively cultivated in the country. Our goals were (1) to determine the floral and reproductive biology of *S. areira*, (2) to compare different pregerminative treatments, and (3) to analyze the morphology of the seedlings during the development for their correct taxonomical identification. Analyses of floral biology and reproductive system, fruit and seed morphology, and different pregerminative treatments were carried out. Seedlings development was recorded at 90, 180, and 270 days. As a result, it was found that the fruit/flower ratio was low, and the pollen/ovules ratio was very high. On the other hand, pregerminative treatments gave very low results that agree with fruit morphology. Seedlings had a normal growth reaching an average of 43 cm height at 270 days, and they developed simple basal leaves with a compound leaves from approximately 180 days. We proposed that the species is dioecious and polygamomonoecious, mainly gynomonoecious, the pollination is ambophily with predominance of entomophily, and the seedlings development is phanerocotyledonar epigeous.

Key words: Fruit morphology, pregerminative treatment, reproductive system, seedling.

Resumen: *Schinus areira* es un árbol naturalizado en el noroeste y oeste de Argentina y extensamente cultivado en el país. Nuestros objetivos fueron (1) determinar la biología floral y reproductiva de *S. areira*, (2) comparar diferentes tratamientos pregerminativos para la especie y (3) analizar la morfología de las plántulas durante el desarrollo para su correcta identificación taxonómica. Se realizaron análisis de biología floral y del sistema reproductivo, de morfología del fruto y semilla, y diferentes tratamientos pregerminativos. Se registró el desarrollo de plántulas a los 90, 180 y 270 días. Como resultado se obtuvo que la proporción frutos/flores fue baja, y la proporción polen/óvulo muy alta. Por otro lado, los tratamientos pregerminativos dieron resultados muy bajos lo cual concuerda con la morfología del fruto. Las plántulas tuvieron un crecimiento normal alcanzando un promedio de 43 cm de altura a los 270 días, y desarrollaron hojas basales simples con hojas compuestas a partir aproximadamente de los 180 días. Se propone que la especie es dioica y polígamo-monoica, mayormente ginomonoica, la polinización es ambófila con predominio de entomofilia, y el desarrollo de las plántulas fanerocotiledonar epígeo.

Palabras clave: Morfología del fruto, plántula, sistema reproductivo, tratamiento pregerminativo.

INTRODUCCIÓN

La especie *Schinus areira* L. (Anacardiaceae, Anacardioideae) fue descripta por Linneo en el año 1753 junto con *Schinus molle* L., morfológicamente muy afín. A partir de entonces ambos taxones han sido tratados como un único taxón o como variedades de la misma especie por diferentes

autores, generándose conflictos respecto a su circunscripción taxonómica. En la actualidad son entidades independientes con rango específico. En un estudio reciente ambas especies se diferenciaron por el número total de folíolos y su disposición, además del tipo de margen de los folíolos que varía en *S. areira* según la posición de las hojas en las ramas péndulas (Zapater *et al.*, 2018).

¹ Facultad de Ciencias Naturales y Consejo de Investigación, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150, 4400 Salta, Argentina. aliciazapater@yahoo.com.ar

Hasta el momento, solo existen descripciones en su mayoría incompletas de *S. areira* sin mención de flores perfectas (Cabrera, 1938; Barkley, 1957; Legname, 1982; Muñoz, 2000), salvo Juárez de Varela & Novara (2007). Para Demaio *et al.* (2002, 2015) la especie tiene flores imperfectas dispuestas en pies separados (especie dioica). Bachelier & Endress (2009) realizaron un estudio de morfología y anatomía floral comparativo de Anacardiaceae y Burseraceae teniendo en cuenta la estructura y evolución del gineceo, y analizaron a *S. molle* L. entre otras especies de Anacardiaceae. Por otra parte, existen estudios con resultados muy variables tanto para *S. areira* como *S. molle*, vinculados principalmente a tratamientos pregerminativos y viverización (Anderson, 2000; Paladini, 1992; Pereira *et al.*, 2016). Sin embargo, el conocimiento de los aspectos reproductivos de la especie es aún escaso. Por lo expuesto, esta investigación tiene como objetivos: 1) determinar la biología floral y reproductiva de *S. areira*, 2) comparar diferentes tratamientos pregerminativos con la finalidad de relacionarlos con la morfología del fruto, 3) conocer la morfología de las plántulas durante el desarrollo para la correcta identificación y como base para estudios de regeneración y dinámica poblacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Morfología floral

Se trabajó durante el período 2016-2017 en una población de *S. areira* con 35 individuos cultivados en el campus de la Universidad Nacional de Salta, los que se preclasificaron en pistilados y estaminados mediante un muestreo preliminar. El muestreo consistió en tomar de cada árbol 30 flores al azar de 10 inflorescencias diferentes y mediante observación en lupa se determinó la dominancia de flores pistiladas y estaminadas en cada individuo, que resultó coincidente con la presencia/ausencia de frutos de la temporada anterior en los diferentes pies. Posteriormente sobre la base de este muestreo se embolsaron con voile las inflorescencias en estado de botón floral en pies pistilados y estaminados. Para determinar las características florales (cualitativas y cuantitativas) se colectaron por separado 60 flores (20 flores pistiladas, 20 flores estaminadas y 20 flores perfectas) en antesis provenientes de individuos diferentes, tomadas al azar. Diez flores

fueron diseccionadas bajo lupa y cada una de sus piezas fueron medidas con un calibre digital, las otras 10 flores fueron conservadas y fijadas en alcohol 70 y FAA (formol, alcohol y ácido acético) para su posterior análisis más detallado en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB; JEOL JSM-6480 LV). Para ello las flores se deshidrataron en una serie creciente de alcoholes (60, 70, 80 y 96%) y posteriormente fueron secadas por punto crítico (D'Ambrogio de Argüeso, 1986) en DCP-1 Critical Point-Denton Vacuum. Finalmente, las muestras fueron montadas en tacos de aluminio y recubiertas con oro con un equipo Denton Vacuum Desk IV.

Biología floral y reproductiva

Ciclo floral. Las características más relevantes del ciclo de las flores de diferente sexualidad se determinaron a partir de 30 pimpollos de cada uno de los tipos de flores elegidos al azar provenientes de pies pistilados y de pies estaminados, los cuales fueron excluidos con una bolsa de voile (Dafni, 1992). Se registró el horario de apertura y cierre de las mismas, la receptividad estigmática y la dehiscencia de las anteras (Dafni, 1992). Las observaciones se realizaron por 15 minutos cada dos horas, desde el inicio de la antesis hasta la senescencia de la flor. La receptividad estigmática se midió a través de la producción de peroxidasas mediante el ensayo con peróxido de hidrógeno. El burbujeo intenso del estigma fue considerado receptivo (Kearns & Inouye, 1993) y se realizó en laboratorio, mientras que el momento de la dehiscencia de las anteras se registró en el campo y bajo lupa.

Viabilidad de los granos de polen. Para determinar la viabilidad de los granos de polen de las flores estaminadas fueron seleccionadas al azar 30 flores, a las cuales se les extrajeron por separado las anteras largas y las cortas. Luego fueron aplastadas en un portaobjeto con agua glicerinada, sobre las que se colocó una gota de azul de algodón. Los granos de polen adquirieron un aspecto más turgente, uniforme y se colorearon de azul intenso (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Idéntico tratamiento pero sin diferenciar en anteras cortas y largas se realizó con los estaminodios de las flores pistiladas. El porcentaje de granos de polen viables se calculó en base al conteo total en un hemocitómetro (Dafni, 1992).

Sistema reproductivo. Para conocer el sistema reproductivo se aplicaron, a principios de setiembre del 2016, dos tratamientos sobre 10 individuos coetáneos (25-35 cm de Diámetro Altura de Pecho: DAP) seleccionados al azar y previamente clasificados cinco como estaminados y cinco como pistilados, con base en el relevamiento previo. Los tratamientos fueron: Autopolinización Espontánea (APE) y Polinización Libre (PL). Para el primer tratamiento se embolsaron con bolsas de voile seis inflorescencias por árbol en estado de botón floral, circundando la copa a nivel medio externo (Dafni, 1992; adaptación para este trabajo por la forma de la copa). Para el tratamiento libre se marcaron al azar en los mismos individuos otras seis inflorescencias con cintas plásticas en posiciones similares. Producida la fructificación a comienzos de noviembre, se extrajeron las muestras embolsadas y libres para efectuar los recuentos de número de flores producidas y de número de frutos logrados. Por último se calculó el Éxito Reproductivo Relativo (ERR) de cada tratamiento a través de la relación $(N^{\circ} \text{ de frutos} / N^{\circ} \text{ de flores}) \times (N^{\circ} \text{ de semillas} / N^{\circ} \text{ de óvulos}) \times 100$ (Dafni, 1992) sobre la base de que los frutos son uniseminados.

Polinización. A fin de determinar el tipo de polinización, en el año 2017 se embolsaron cinco inflorescencias con bolsas de tul en tres individuos pistilados distanciados entre sí. En esta etapa también se colectaron muestras de los individuos en estado de floración y fructificación, que se guardaron en FAA para estudios al MEB. Por otra parte, se registraron y determinaron los visitantes florales. Las observaciones se realizaron en cinco árboles ubicados en el campus de la Universidad Nacional de Salta, durante cuatro días diferentes en el pico de floración. Las mismas fueron en períodos de 15 minutos, distribuidos a lo largo del día. Se recolectaron los visitantes mas frecuentes y se determinaron con una colección entomológica de referencia.

La proporción P/O (polen/óvulo) se determinó en laboratorio a partir de 10 botones florales. Se extrajeron separadamente los estambres de cada ciclo (cortos y largos), se maceraron en 0,5 ml de una solución de detergente, agua y alcohol, y se homogeneizaron en vortex. Luego se extrajo una pequeña alícuota que fue colocada en un hemocitómetro para el conteo de granos de polen. El índice P/O resultante del promedio de las 10 flores se comparó con los valores índices

de la tabla de Cruden (1977) y de Dafni (1992), obteniendo la clasificación del sistema reproductivo correspondiente a la especie.

Morfología del fruto. Para el estudio de los frutos se seleccionaron al azar 25 drupas maduras de la misma población, a las que se les registró el diámetro por su forma esférica y el peso específico con exocarpo, empleando calibre digital y balanza de precisión. También fue determinado el peso de 100 frutos con y sin exocarpo. La anatomía del fruto y la semilla se observó y dimensionó al MEB.

Germinación y desarrollo de plántulas

Se determinó el Poder Germinativo (PG) y la Energía Germinativa (EG) en siete tratamientos pregerminativos utilizando semillas con cinco meses de colección y conservadas en bolsas de papel a temperatura ambiente, sobre la base de que esta especie conserva el PG por largo tiempo, hasta dos años, como *S. molle* (Anderson, 2000). Los experimentos se realizaron en cajas de Petri con cuatro repeticiones y 25 semillas con agar como sustrato usando cámara de germinación a 28° C y fotoperíodo 12/12. Los tratamientos fueron (1) y (2): Testigos con y sin exocarpo respectivamente; (3) y (4): Agua a 80° C y enfriamiento gradual por tres días, con y sin exocarpo respectivamente; (5): Lijado con lija de agua 120; (6): Lijado e inmersión en agua a temperatura ambiente por tres días; y (7): Escarificación con mortero y agua a 80° C por tres días. Se calculó el PG% realizando un promedio de las repeticiones $\times 100$; la EG% se calculó mediante el conteo de las semillas que germinaron en un lapso prescripto (hasta 10 días); teniendo en cuenta que un lote de semillas se considera bueno si germinan el 50% en la tercera parte del tiempo total de germinación, en este caso 30 días (Willan, 1991; Ottone, 2005). La viabilidad de los fruto-semillas se determinó a partir de los resultados obtenidos de la aplicación de los métodos pregerminativos teniendo en cuenta el número de plántulas obtenidas más el número de frutos no germinados, posteriormente diseccionados con semilla en su interior (viables) o frutos con semillas afectadas, huecos o con brúquidos (no viables) (Normas ISTA, 2016; adaptadas para el trabajo).

Las plántulas obtenidas en los ensayos de germinación se repicaron a bandejas con sustrato de mantillo y, posteriormente, a los 90 días con una altura de 3-4 cm a envases individuales previa

caracterización y medición de raíz, hipocótilo, cotiledones, epicótilo, protófilos, tallo, entrenudos y nomófilos. Las plántulas fueron registradas en su desarrollo hasta los 270 días.

RESULTADOS

Morfología floral

Los árboles resultaron ser dioicos y polígamo-monoicos, predominantemente gimnomonoicos (Fig. 1A). Las ramas floríferas son péndulas de 12-60 cm long., compuestas por una panícula terminal y 2-15 panículas basales, todas de posición axilar, muy ramificadas, con desarrollo acrófugo (Fig. 1B-C). La panícula apical es más o menos piramidal, de 7-14 cm long., con 5-9 ramificaciones y 40-90 flores. Las panículas basales son frecuentemente de 6-8 cm long. (raro con valores mínimos de 3-5 cm y un máximo de 9 cm) con generalmente 4 ramificaciones y 5-30 flores. Las inferiores presentan menor número de flores.

Las flores son pentámeras, las pistiladas (Fig. 1D) con los sépalos triangulares de 0,57-0,6 x 0,4-0,42 mm, los pétalos oblongos de 2-2,2 x 0,8-1,2 mm y el disco nectarífero interestaminal con lóbulos de 0,24-0,26 mm long. y abundantes estomas (Fig. 1F). Los estaminodios son 10, cada uno de 0,8 mm long. El gineceo posee una longitud de 1,5 mm, el ovario es de 0,86-0,93 mm diám., con un único estilo corto de 0,29-0,3 x 0,26-0,27 mm y tres cabezas estigmáticas grandes de 0,21-0,34 x 0,31-0,39 mm. las cuales son muy papilosas y cubiertas parcialmente por una membrana (Fig. 1E). Cada óvulo es de 0,43-0,47 x 0,23-0,26 mm. Las flores estaminadas (Fig. 1G) presentan sépalos triangulares de 0,8-0,83 x 0,4-0,5 mm, los pétalos obovados de 1,5-1,8 x 0,88-0,9 mm y los lóbulos del disco nectarífero de 0,8-0,9 mm long. con abundantes estomas. El androceo está formado por dos ciclos pentámeros con el ciclo externo largo de 2,4-2,52 mm long. y el ciclo interno corto de 1,7-1,79 mm long. Los granos de polen son esféricos de 0,02 mm diám. y escultrados (Fig. 1I) del tipo *Schinopsis balansae* Engl. con la exina supraestriada-infrarreticulada presentando estrias largas, angostas y muros bajos (Anzoátegui, 2001). El pistilodio es ovado de 0,65-0,7 mm long. con el ovario de 0,49-0,5 x 0,42-0,43 mm, tres estilos cilíndricos de 0,2-0,22 x 0,072-0,09 mm, huecos y con hendiduras laterales (Fig. 1H). Las

flores perfectas (Fig. 1J) están ausentes o son muy escasas por panícula pistilada y raras en panículas estaminadas. Estas flores presentan características intermedias entre las descritas para las flores pistiladas y estaminadas. El androceo presenta una longitud similar al gineceo y el disco nectarífero abundantes estomas (Fig. 1L). El gineceo es de 1,31-1,33 x 0,8-0,83 mm con tres estilos cilíndricos de 0,3-0,32 x 0,17-0,18 mm y cabezas estigmáticas del mismo diámetro que el estilo (Fig. 1K).

Biología floral y reproductiva

Ciclo floral. La apertura floral se produjo en horas de la mañana o de la tarde dependiendo de la cantidad de luz solar y de la temperatura. La apertura a la mañana fue entre las 9-11 h, a la tarde entre las 14-16 h y la antesis en los tres tipos de flores fue de aproximadamente 28 h.

En las flores estaminadas y perfectas, las anteras del ciclo externo fueron las primeras en abrirse en estadio de pimpollo y se vaciaron aproximadamente a las 18 h luego de la apertura de la flor. Las anteras del ciclo interno se abrieron en el momento de la antesis y la disponibilidad de granos de polen se registró hasta el final de la misma. Ambas presentaron dehiscencia longitudinal introrsa. Las tres ramas estigmáticas de las flores perfectas y pistiladas fueron de color verde claro brillante en el momento de la antesis y su receptividad estigmática fue nula o mínima en el primer día. A medida que las ramas estigmáticas se tornaron de color oscuro la receptividad estigmática fue incrementándose, siendo máxima en la tarde del segundo día, cuando las anteras de ambos ciclos estaban vacías.

Los estaminodios del ciclo externo de las flores pistiladas fueron los primeros en abrirse. Luego lo hicieron los del ciclo interno y en ambos casos la dehiscencia fue longitudinal introrsa. No se registró receptividad estigmática en los pistilodios de las flores analizadas.

Viabilidad de los granos de polen. La viabilidad de los granos de polen fue variando a lo largo del ciclo floral. En el momento de la apertura de la flor, las anteras largas presentaron el 80% de los granos viables. En las anteras cortas el 90% eran no viables, tornándose viables un 80% al día siguiente de la apertura floral cuando las anteras largas se vaciaron. El 100% de los granos de polen provenientes de los estaminodios no fueron viables en todos los estadios registrados.

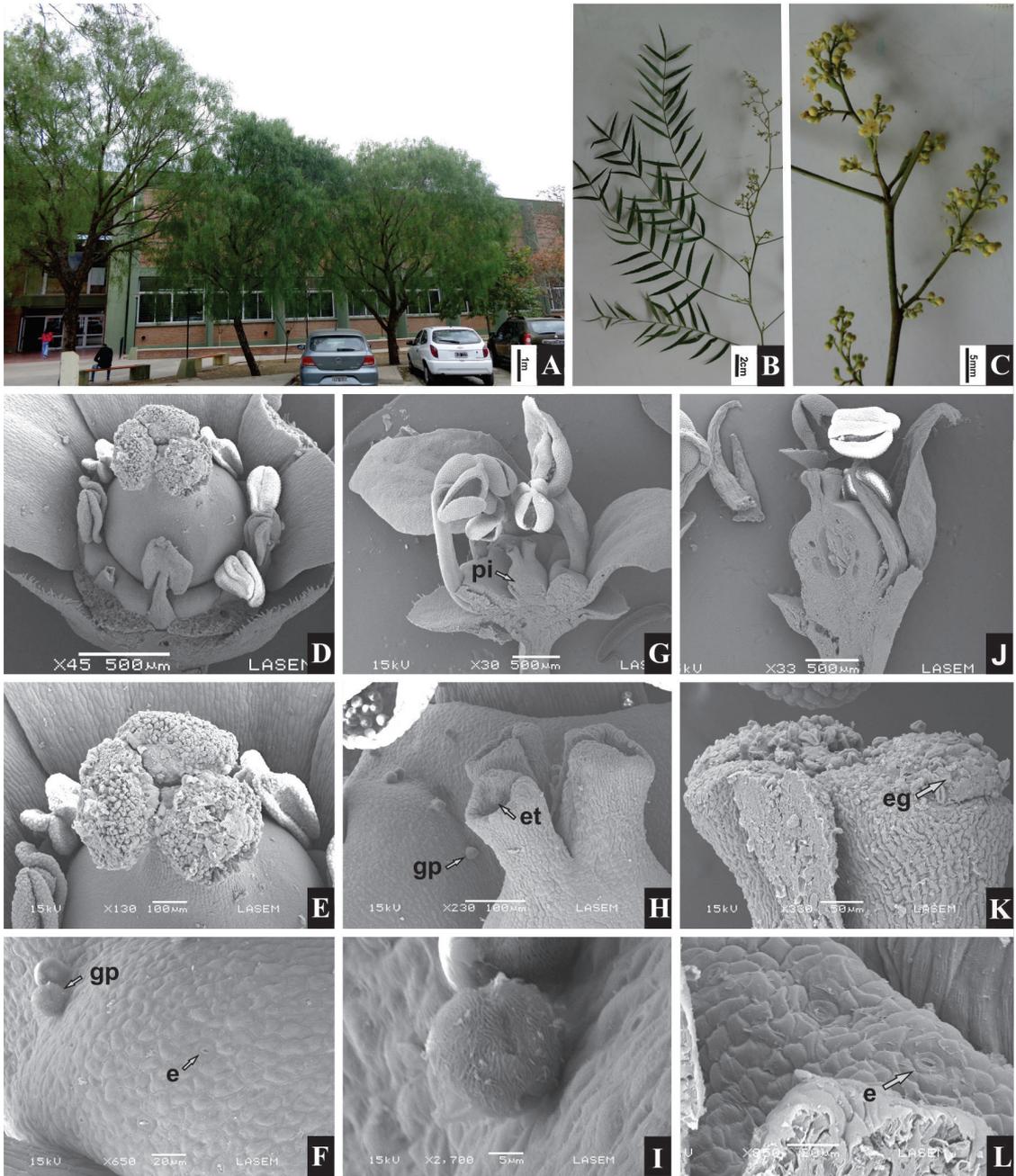


Fig. 1. *Schinus areira*. **A:** Árboles de la población estudiada. **B:** Parte terminal de una rama florífera. **C:** Parte terminal de una panícula. **D:** Flor pistilada con los ciclos fértiles expuestos, vista superior (MEB). **E:** Detalle del estigma de la flor pistilada y cabezas estigmáticas con membrana (MEB). **F:** Detalle del disco nectarífero de la flor pistilada con estomas y granos de polen (MEB). **G:** Flor estaminada con los dos ciclos del androceo y el pistilodio, corte longitudinal (MEB). **H:** Detalles del pistilodio de la flor estaminada con los estilos huecos y el disco nectarífero con granos de polen (MEB). **I:** Grano de polen (MEB). **J:** Flor perfecta, corte longitudinal (MEB). **K:** Detalle del estigma reducido de la flor perfecta con papilas y restos de membrana. **L:** Detalle del disco nectarífero de la flor perfecta con estomas (MEB). Abreviaturas: e: estomas; eg: estigma; et: estilos; gp: grano de polen; pi: pistilodio. Escalas = A: 1 m; B: 2 cm; C: 5 mm; D, G, J: 500 μ m; E, H: 100 μ m; F, L: 20 μ m; I: 5 μ m; K: 50 μ m (A-C: fotos de V. Aquino).

Sistema reproductivo. La proporción de fruto/flor fue muy baja por APE (1,4-8,8%) en pies estaminados y pistilados, respectivamente, en tanto que en PL fue cercana al 50% en los individuos diclino-pistilados y ginomonoicos. El número de granos de polen fue mayor en los estambres del ciclo externo y menor en los del ciclo interno. La especie se caracteriza por tener solo un óvulo por lo que los valores de P/O en las flores estaminadas fue muy elevado (Tabla 1).

Éxito reproductivo. El éxito reproductivo fue mayor en los pies pistilados y ginomonoicos. En polinización libre fue del 44%, a pesar del número elevado de flores producidas por inflorescencia (90-380). En el tratamiento de APE la producción de fr/fl fue muy baja (9%). Solo en uno de los pies estaminados se generaron frutos con un éxito reproductivo del 1,4% en APE y 1,9% en PL. Esto se debió probablemente a que la producción de flores perfectas es muy rara y escasa, o que algunas flores estaminadas puedan generar frutos por desarrollo del pistilodio (excepcional). Se destacó un pie estaminado (el ejemplar 19) que formó flores y algunos frutos hasta 4-5 por panícula con posterioridad al período normal de fructificación (Fig. 2A-B). Estos frutos fueron colectados para su estudio (Fig. 2E). También las flores fueron colectadas y observadas al MEB. El análisis al MEB del corte longitudinal de las flores estaminadas en este período mostró que el pistilodio podía presentar un óvulo (Fig. 2D). Otras flores, aún al estado de botón floral, ya se encontraban con un óvulo de 0,14-0,15 x 0,094-0,095 mm llenando completamente el lóculo (Fig. 2C). Las cabezas estigmáticas del pistilodio tenían estigmas reducidos del mismo diámetro que el estilo y aparentemente con muy pequeñas papilas, no huecas. En algunos frutos se comprobó la existencia de semilla (Fig. 2F) y en otros las semillas estaban ausentes o infectadas por brúquidos como los otros individuos de la población. Al germinar los frutos, previamente escarificados mediante corte apical de la drupa, se obtuvieron plántulas anómalas con hipocótilo y cotiledones sin apreciable formación de radícula (Fig. 2G-H-I).

Polinización. Como resultado del embolsamiento con tul de inflorescencias pistiladas se obtuvieron valores de producción de frutos de 12%, 19% y

Tabla 1. Proporción Polen/Óvulo por ciclos y total por flor.

Número de granos de polen		
Estambres largos	Estambres cortos	Total flor
17437,5 +/- 3165,7	9587,5 +/- 5286,9	27025

25% en promedio en los tres individuos estudiados. Por otra parte como resultado de la observación de los visitantes florales en esta población solo se registró la presencia de abejas (i.e. *Apis mellifera*), principalmente en los individuos estaminados y menos en los pistilados.

Morfología del fruto. El fruto, definido como una drupa de forma esférica (Fig. 3A-B), alcanzó en la población estudiada un diámetro promedio de 3,61 mm con rango de 3-4,5 mm. El peso específico obtenido fue de 26,692 kg/dm³ y el peso por 100 frutos de 3,74 g. Hacia el interior del exocarpo, se observó al MEB un mesocarpo parenquimático con aproximadamente 1,08 mm de espesor en promedio con seis o más conductos resiníferos de aproximadamente 0,6 mm de diámetro, asociados a haces vasculares. El mesocarpo se encontró externamente recubierto por una capa resinosa color ámbar resultante de la secreción de los conductos que forman un depósito muy delgado y adhesivo (Fig. 3C-D). El endocarpo presentó tres capas de esclereidas en empalizada: la capa externa delgada con un espesor de 0,05 mm formada por osteoesclereidas; la intermedia muy delgada constituida por braquiesclereidas de 0,02 mm de espesor y la interna gruesa de 0,15 mm de espesor con macrosclereidas lignificadas (Fig. 3E). Una cuarta capa celular, la capa cristalífera externa muy delgada y uniseriada que menciona la bibliografía, no pudo ser observada con claridad en este estudio. La semilla se mostró integumentada e imposible de separar del endocarpo. En relación a la viabilidad de los frutos-semilla se registró un bajo porcentaje de semillas viables (27%) y un elevado número de no viables (73%).

Tratamientos pregerminativos

Los resultados de la aplicación de los siete tratamientos pregerminativos se muestran en Tabla 2. El tratamiento con mayor éxito germinativo

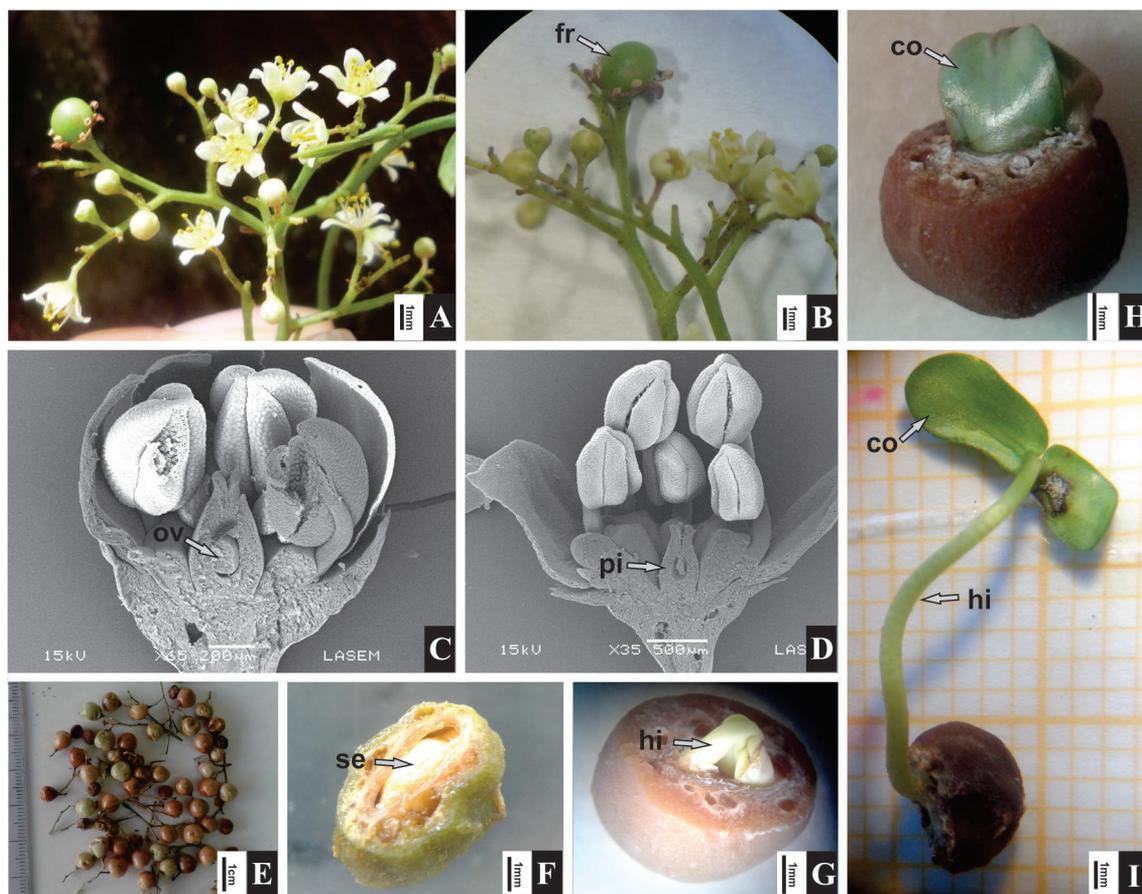


Fig. 2. *Schinus areira*, árbol 19 (Universidad Nacional de Salta). **A:** Parte de una panícula estaminada con frutos en desarrollo. **B:** Detalle del extremo de la panícula con un fruto en desarrollo. **C:** Botón floral estaminado, corte longitudinal (CL) con óvulo desarrollado (MEB). **D:** Flor estaminada en anthesis (CL), pistilodio con óvulo péndulo (MEB). **E:** Drupas. **F:** Drupa seccionada apicalmente, con semilla. **G:** Drupa seccionada con semilla germinando, vista de hipocótilo curvado. **H:** Estado más avanzado con cotiledones emergentes. **I:** Plántula en su máximo desarrollo con hipocótilo y cotiledones, sin formación de radícula. Abreviaturas: co: cotiledones; fr: fruto; hi: hipocótilo; ov: óvulo; pi: pistilodio; se: semilla. Escalas = A-B, F-I: 1 mm; C: 200 μ m; D: 500 μ m; E: 1 cm (A-B, E-I: fotos de V. Aquino).

Tabla 2. Resultados de los tratamientos pregerminativos.

Tratamientos	PG (%)	EG (10 d)
Testigo c/exocarpo	1%	0%
Testigo s/exocarpo	0%	0%
Agua caliente (80°C) s/exocarpo x 3 días	35%	8%
Agua caliente (80°C) c/exocarpo x 3 días	4%	0%
Lijado	10%	0%
Lijado y en agua a t° ambiente x 3 días	9%	0%
Mortero y en agua caliente (80°C) x 3 días	7%	1%

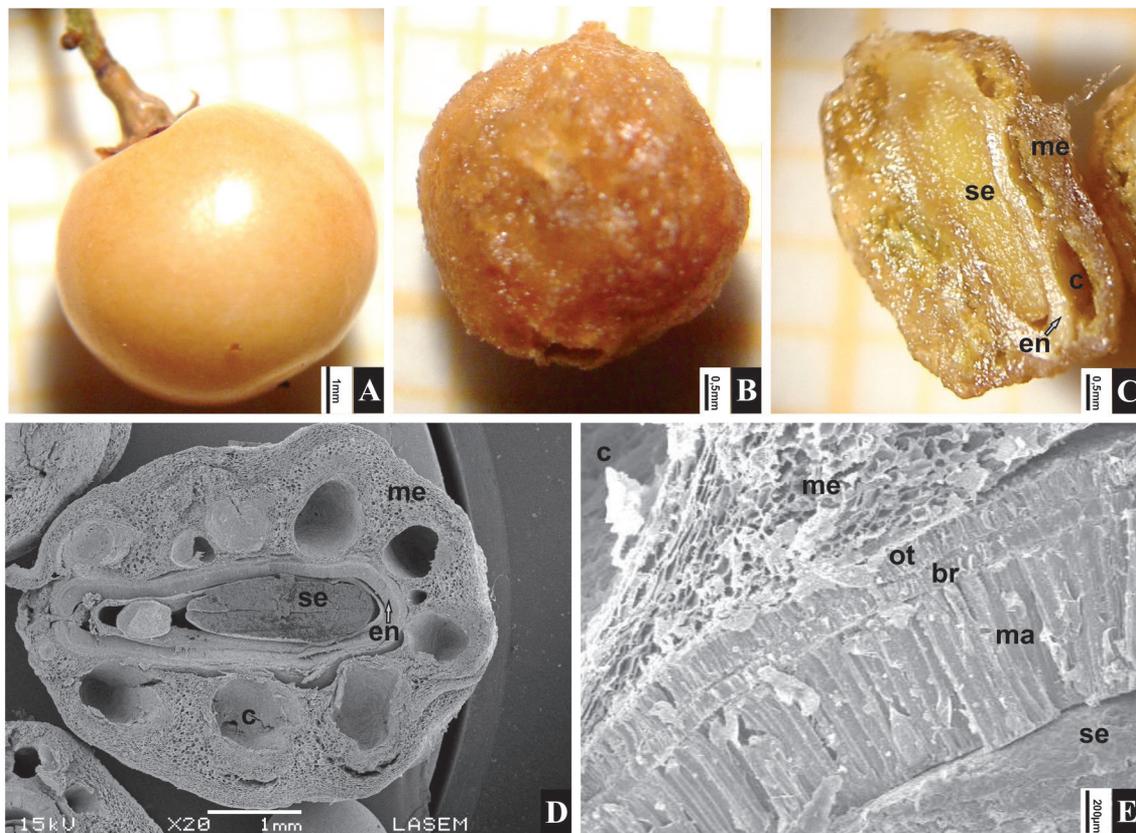


Fig. 3. *Schinus areira*. **A:** Drupa con exocarpio. **B:** Drupa sin exocarpio. **C:** Drupa, corte transversal. **D:** Drupa, corte transversal (MEB). **E:** Detalle del endocarpio con las tres capas de escleridas en empalizada (MEB). Abreviaturas: br: braquiescleridas; c: conducto resinífero; en: endocarpio; ma: macroescleridas; me: mesocarpio; ot: osteoescleridas; se: semilla. Escala = A, D: 1 mm; B-C: 0,5 mm; E: 200 μ m (A-C: fotos de V. Aquino).

(PG 35%) y energía germinativa (8%) fue la aplicación de agua caliente a 80° C sobre frutos sin exocarpio e imbibición durante tres días. Este mismo tratamiento sobre frutos con exocarpio muestra un valor muy bajo de PG (4%). La aplicación de lija de agua sobre el mesocarpio resultó ineficiente con un bajo PG (10%) debido a que no se pudo eliminar la cubierta pastosa tornando ineficiente el tratamiento.

Análisis morfológico y de desarrollo de plántulas

A los 90 días las plántulas alcanzaron una altura promedio de 10,34 cm incluida la raíz la cual midió 4,7 cm de largo con nueve raíces secundarias. El hipocótilo de 2 cm de largo superó ampliamente al epicótilo de 0,65 cm de largo. Los cotiledones tuvieron un corto peciolo

de 1 mm de largo y fueron oblongos u ovados de 0,37 x 0,22 cm. Los protófilos opuestos fueron simples, ovados y lanceolados, aproximadamente de 2 x 0,8 cm, de borde levemente aserrado, con peciolos de 3 mm de largo. El tallo presentó tres nudos, los dos inferiores cortos de 0,5 y 0,45 cm de largo. La primera hoja fue muy similar en tamaño y forma a los protófilos. La segunda hoja, de 2,6 x 1 cm, fue apenas mayor que la primera y los protófilos, y la tercera aún se encontraba incompletamente desarrollada, con menores dimensiones, presentando todas margin completamente aserrado (Fig. 4A). A los 180 días la altura promedio sin raíz fue de 21 cm, con 9-13 hojas simples (Fig. 4B-D), ovadas y con margen aserrado. En algunos individuos las hojas apicales presentaron 1-2 lóbulos basales

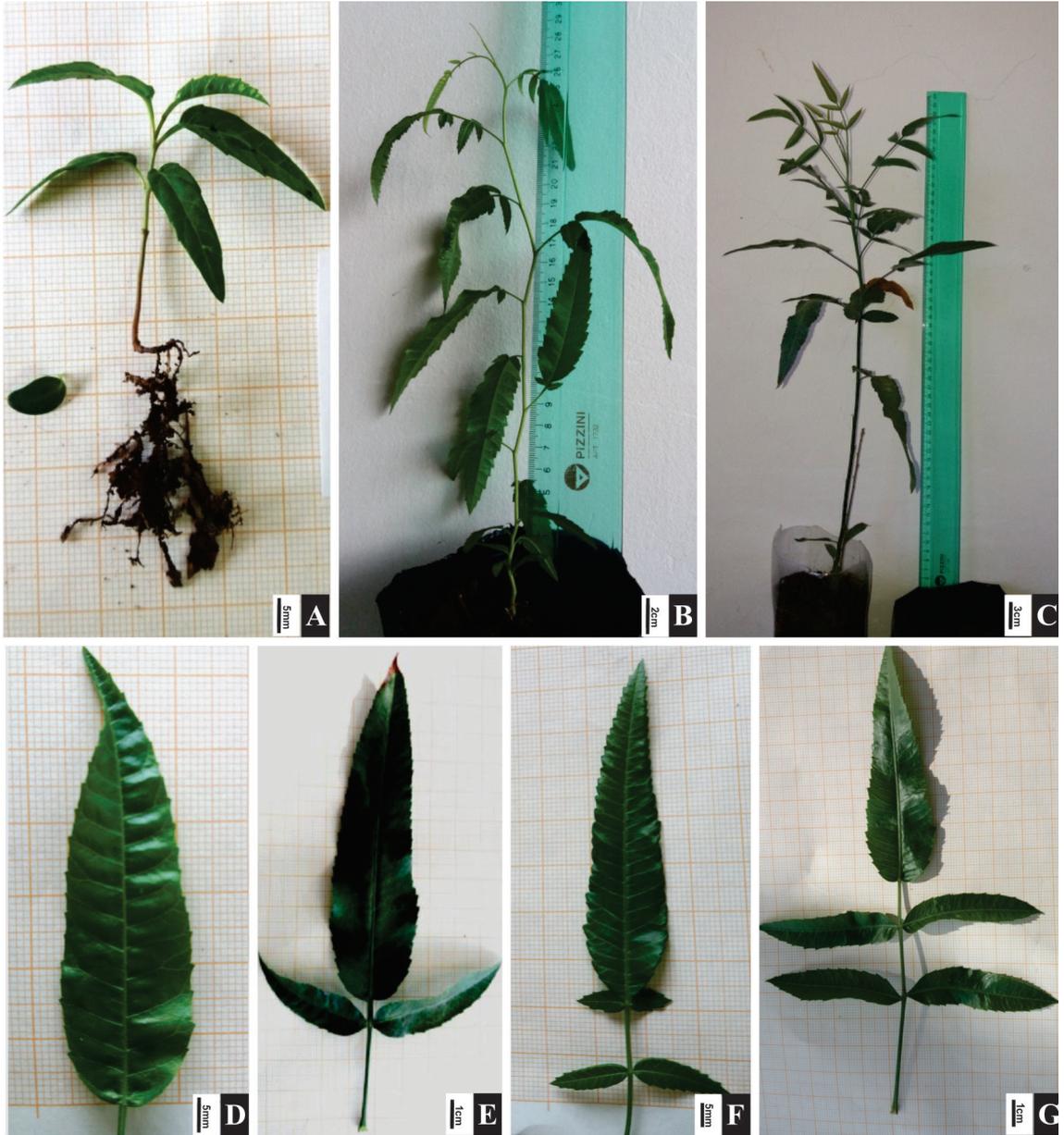


Fig. 4. *Schinus areira*. **A:** Plántula de 90 días. **B:** Plántula de 180 días. **C:** Plántula de 270 días. **D:** Hoja simple de plántula B. **E-F:** Hojas apicales pinnadas de plántula B. **G:** Hoja apical de plántula C. Escala = A, D, F: 5 mm; B: 2 cm; C: 3 cm; E, G: 1 cm (A-G: fotos de G. Araya y J. Villada).

y lámina compuesta imparipinnada con 1-2 yugas, siendo el folíolo terminal de gran tamaño (Fig. 4E-F). A los 270 días la altura promedio alcanzada fue de 43 cm sin raíz (Fig. 4C), con 19-25 hojas de las cuales 11-18 fueron simples y enteras con 2-lóbulos basales, y las apicales

compuestas imparipinnadas, uni o biyugadas (Fig. 4D-G). Los valores mencionados son el promedio de varias observaciones. En el caso del ejemplar estaminado 19 se obtuvieron plántulas anómalas con hipocótilo y cotiledones sin apreciable formación de radícula (Fig. 2I).

DISCUSIÓN

Biología floral y reproductiva

Ciclo floral. *Schinus areira* es una especie dicógama con diferente momento de maduración entre los ciclos fértiles de la flor. Además es protandra con polen disponible en las flores estaminadas y perfectas, antes que el estigma de las flores pistiladas y perfectas esté receptivo. Un resultado similar se obtuvo en otra especie de Anacardiaceae (Barberis *et al.*, 2012). Esto impediría que el polen autógeno fertilice el estigma evitando la autopolinización y, de esta manera, los polinizadores tendrían acceso al polen maduro desde un comienzo de la antesis. La variación en la antesis de ambas flores es común en especies dioicas tropicales (e.g. Opler & Bawa, 1978; Piratelli *et al.*, 1998). En el caso de *S. areira* la duración de las flores masculinas fue mayor que la de las flores femeninas en contraste con los resultados obtenidos en *Schinus terebinthifolia* Raddi por Lenzi & Ortie (2004), quienes reportaron que las flores masculinas tendrían una duración de 12 h aproximadamente y las flores femeninas de 32 h aproximadamente. Con relación al ejemplar estaminado N° 19, que extendió su floración en dos periodos del año, sería coincidente con *S. terebinthifolia* (Lenzi & Ortie, 2004) y otras especies dioicas (Antos & Allen, 1999). Según Delph (1999) los pies estaminados florecen más a menudo que los pies pistilados, un 63% de los casos estudiados.

Viabilidad de los granos de polen. La viabilidad y germinabilidad del polen depende de diversos factores como el fotoperíodo, la temperatura, la humedad y la polución ambiental, entre otros (Bellani & Paoletti, 1992; Cecich, 1997). Se observó que la viabilidad de los granos de polen en *S. areira* coincidió con la dehiscencia de las anteras, característica ya mencionada por Kearns & Inouye (1993), según los cuales la viabilidad es máxima en el momento de la dehiscencia de las anteras, decreciendo con el tiempo si es expuesto a las condiciones del ambiente.

Sistema reproductivo. Nuestros resultados indican que se trata de una especie diclinodioica y también polígamo-monoica (predominantemente ginomonoica), datos coincidentes parcialmente con Demaio *et al.* (2002, 2015) quienes describen a la especie como dioica. Se observó la formación de frutos y semillas por ambos tratamientos de PL y APE. La baja producción en esta última podría ser

explicada al menos parcialmente por la presencia de una gruesa membrana estigmática como ocurre en otras especies en las cuales es necesaria la ruptura de la misma por parte de los polinizadores. Esta característica correspondería a rasgos funcionales o barreras mecánicas para evitar la autopolinización en flores hermafroditas y autocompatibles (Barrett, 2002, 2010). El número de granos de polen fue muy elevado y teniendo en cuenta los resultados del P/O, según Cruden (1977) y Dafni (1992), *S. areira* tiene un sistema xenógamo obligado. Dicho dato es coincidente con los experimentos a campo siendo necesario el traslado de los granos de polen entre los pies estaminados y los pistilados. Además las especies con pocos óvulos o uniovuladas pueden presentar una relación P/O elevada, independientemente del sistema de apareamiento (Ramírez & Seres, 1994).

Éxito reproductivo. El bajo éxito reproductivo registrado en ambos tratamientos podría deberse a que antes de alcanzar el cuajado de los frutos las flores se caen formando una extensa deposición amarilla densa al pie de los árboles, a pesar de la elevada producción de flores de los pies estaminados. Esta abscisión de flores es una característica que fue registrada en otras especies de Anacardiaceae (Jordano, 1988). Por otra parte, la baja producción de frutos en especies dioicas es mencionada en otras especies y estaría relacionada con la ausencia de los polinizadores o bien porque estos visitarían más las flores estaminadas que les ofrecen mayor número de recompensas además de ser más vistosas (Eckhart, 1999; Álvarez *et al.*, 2014), lo que reduciría la posibilidad de la fecundación de los óvulos en las flores femeninas (Bawa, 1980b). Otra causa podría estar asociada con la gran perturbación registrada en el ambiente como fue analizado en otras especies dioicas como *Fuchsia parviflora* Lindl. con polinización biótica (Álvarez *et al.*, 2014). En el caso de la planta N° 19 su baja producción de frutos fuera del período de floración de la población, podría ser en parte explicado a que se trata de un individuo aislado temporalmente, lo cual disminuye las probabilidades de ser polinizado (Lienert, 2004; Álvarez *et al.*, 2014).

Polinización. De los experimentos de exclusión de polinizadores con bolsa de tul se infiere que la polinización es en parte anemófila, con caracteres típicos de este tipo de polinización: flores unisexuales expuestas fuera de la masa de hojas, perianto

insignificante, anteras y estigmas expuestos, bajo número de óvulos por flor (Faegri & van der Pijl, 1979). Por otro lado, presenta polinización entomófila ya que los visitantes mas frecuentes en esta población fueron *Apis mellifera*, mencionado también por Fragoso & Varanda (2011) para una población de *S. terebinthifolia*. Esto es coincidente con las características morfológicas de las flores como la existencia de un disco nectarífero con abundantes estomas secretores, membrana en los estigmas, presentación secundaria del polen en disco y abundante producción de polen esculturado por lo que habría recompensas de néctar y polen. La especie es ambófila aunque con predominio de entomofilia como ocurre en *S. longifolia* (Lindl.) Speg. (Torreta & Basilio, 2009).

Morfología del fruto. Tratamientos pregerminativos

La presencia de frutos carnosos (drupas) en *S. areira* confirma la hipótesis expuesta por muchos investigadores sobre la existencia de una relación entre dioecia, frutos carnosos y dispersión zoocórica (Bawa, 1980a; Thomson & Brunet, 1990). Respecto al tamaño de las drupas de la población estudiada fueron muy pequeñas con relación a las de otras poblaciones en las que se ha registrado que pueden alcanzar diámetros mayores de hasta 6 mm (Barkley, 1957; Múlgura, 2003). El endocarpo se correspondió al definido por Wannan & Quinn (1990) para el Grupo A del tipo *Anacardium* y la Tribu Rhoëae; también por Copeland (1959) para su afín *S. molle* y por Carmello-Guerreiro & Sartori Paoli (2002) para *S. terebinthifolia*.

En relación a los tratamientos pregerminativos, los resultados obtenidos con los tratamientos sin ácidos muestran muy bajos valores de viabilidad (27%) lo que se asociaría al menos en parte a los problemas de sanidad de las drupas debido principalmente a la infestación por brúquidos. Resultados similares se obtuvieron en otros trabajos con Anacardiaceae y pareciera ser una característica común en especies de esta familia debido al aborto de embriones, partenocarpia o predación de las semillas por algunos invertebrados (Jordano, 1988).

Por otra parte la semilla posee el embrión integumentado mecánicamente protegido por el fruto duro. En éste el endocarpo está compuesto por tres capas de esclereidas en empalizada determinando una dormancia física (PY) que concuerda con lo expuesto por Baskin *et al.* (2000). Dichos autores además mencionan que en

el endocarpo, particularmente en la capa interna de macroesclereidas, existe una discontinuidad (i.e, el micrópilo carpelar) que admitiría el ingreso de agua al embrión. Sin embargo esta discontinuidad no existiría en las capas mas externas del endocarpo con osteoesclereidas y braquiesclereidas, que bloquearían la entrada de agua al micrópilo carpelar en las semillas durmientes.

La escarificación mecánica del endocarpo promueve la rápida germinación de la semilla (Baskin *et al.*, 2000), lo que no pudo ser evaluado adecuadamente en esta investigación por el empastamiento de la lija con la cubierta del mesocarpo al no haber sido eliminada previamente. Varios autores coinciden en que la cubierta pastosa es inhibitoria para la germinación, siendo imprescindible su remoción mediante la maceración en agua durante 72 h o hasta 4 días (Paladini, 1992; Pereira *et al.*, 2016). Los tratamientos pregerminativos sugeridos como exitosos para la ruptura de la dormición física una vez eliminada la cubierta inhibitoria, son la inmersión en agua hervida, la escarificación mecánica o la escarificación mecánica seguida por la inmersión en agua caliente (Paladini, 1992; Anderson, 2000). Para su afín *S. molle*, el pretratamiento con ácido sulfúrico de baja concentración (10%) por 5 minutos se menciona como muy efectivo para una buena germinación (Pereira *et al.*, 2016), lo que avalaría la dispersión exitosa por medio de aves migratorias que ha sido mencionada para esa especie en México por Corkidi *et al.* (1991). Si bien en la población estudiada no se observaron dispersores, es muy probable que también en *S. areira* ésta sea la forma predominante de dispersión.

Germinación y desarrollo de plántulas

El desarrollo de las plántulas es del tipo fanerocotiledonar epigeo donde el hipocótilo está bien desarrollado y el epicótilo está reducido, coincidiendo con *S. terebinthifolia* y con la mayoría de las especies arbóreas de Brasil (Alves Lobo *et al.*, 2013). Una vez establecidas las plántulas continúan su desarrollo con buen vigor y crecimiento normal. En sus primeras etapas las plántulas son difíciles de identificar a campo porque hasta los 90 días al menos se mantienen con hojas simples, ovadas, alargadas y con margen completamente aserrado, muy semejantes a los protófilos, por lo que podrían confundirse con

otras especies herbáceas y malezas, razón que torna importante su reconocimiento. Inclusive hasta los 270 días, aunque ya se encuentran hojas compuestas, son imparipinadas uni y biyugadas y todavía no se asemejan a las hojas adultas; tampoco a las hojas producidas en los rebrotes de fuste. Estos, que se generan abundantemente en la base, tienen hojas semejantes a las del follaje adulto, con 7-10 pares, pero son opuestos y con márgenes regularmente aserrados. Según Alves Lobo *et al.* (2013) una plántula se considera normal cuando posee raíz primaria por lo que las plántulas originadas del ejemplar 19 son consideradas anómalas y ello podría deberse a un efecto de endogamia (Alvarez *et al.*, 2014).

CONCLUSIÓN

Esta investigación permitió clarificar los sistemas sexuales existentes en *S. areira* así como variados aspectos de la morfología, biología floral y reproductiva, que no habían sido estudiados previamente. También permitió relacionar la anatomía del fruto con las posibilidades germinativas, la forma de dispersión de los mismos y el establecimiento de las plántulas, datos indispensables para plantear estrategias de manejo y conservación de esta especie en los ambientes naturales.

AGRADECIMIENTOS

Dedicamos esta producción a quien fue nuestra compañera la Dra. Patricia Hoc†, investigadora de la UBA y el CONICET, quien nos asesoró en las etapas iniciales de la investigación como codirectora del Proyecto de Investigación sobre las Anacardiaceae de Argentina. Este trabajo se realizó con el financiamiento del Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta en el marco del proyecto tipo A N° 2283.

BIBLIOGRAFÍA

ÁLVAREZ, A., M. DE LOS Á. PÉREZ & E. CUEVAS. 2014. Efecto de la fragmentación del hábitat en el éxito reproductivo de *Fuchsia parviflora*, una especie dioica. *Biológicas* 16: 30-32.

- ALVES LOBO, G., D. GARCÍA DE SANTANA, A. NASSIF SALOMÃO, L. SALAZAR REHBEN & A. POLENZ WIELEWICKI. 2013. A technological approach to the morphofunctional classification of seedlings of 50 Brazilian forest species. *J. Seed Sci.* 36: 87-93.
- ANDERSON, P. 2000. *Schinus molle* L. En: VOZZO, J. A. (ed.), *Manual de semillas de arboles tropicales*, pp. 695-696. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio Forestal, Washington.
- ANTOS, J. A. & G. A. ALLEN. 1999. Patterns of reproductive effort in male and female shrubs of *Oemleria cerasiformis* a 6 year study. *J. Ecol.* 87: 77-84.
- ANZOÁTEGUI, L. M. 2001. Anacardiaceae. En: PIRE S. M., L. M. ANZOÁTEGUI & G. A. CUADRADO (eds.), *Flora Polínica del Nordeste Argentino* 2: 19-26. EUDENE-UNNE, Corrientes.
- BACHELIER, J. B. & P. K. ENDRESS. 2009. Comparative floral morphology and anatomy of Anacardiaceae and Burseraceae (Sapindales), with a special focus on gynoeceum structure and evolution. *Bot. J. Linn. Soc.* 159: 499-571.
- BARBERIS, I. M., V. MOGNI, L. OAKLEY, C. ALZUGARAY, J. L. VESPRINI & D. E. PRADO. 2012. Biología de especies australes: *Schinopsis balansae* Engl. (Anacardiaceae). *Kurtziana* 37: 59-86.
- BARKLEY, F. A. 1957. *Schinus* L. *Lilloa* 28: 4-109.
- BARRETT, S. C. H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Rev. Genet.* 4: 274-284.
- BARRETT, S. C. H. 2010. Understanding planta reproductive diversity. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 365: 99-109.
- BASKIN, J. M., C. C. BASKIN & X. LI. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biol.* 15: 139-152.
- BAWA, K. S. 1980a. Evolution of dioecy in flowering plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 11: 15-39.
- BAWA, K. S. 1980b. Mimicry of male by female owers and intrasexual competition for pollinators in *Jacaratia dolichaula* (D. Smith) Woodson (Caricaceae). *Evol.* 34: 467-474.
- BELLANI, L. & E. PAOLETTI. 1992. New type of damage to *Quercus ilex*: pollen germination and hydration ability. *Eur. J. Forest Pathol.* 22: 284-290.
- CABRERA, A. L. 1938. Revisión de las Anacardiáceas austroamericanas. *Revista Mus. La Plata* 2: 3-65.
- CARMELO-GUERREIRO, S. M. & A. A. SARTORI PAOLI. 2002. Ontogeny and estructura of the pericarp of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 45: 73-79.
- CECICH, R. 1997. Pollen tube growth in *Quercus*. *Forest Sci.* 43: 140-146.

- COPELAND, H. F. 1959. The reproductive structures of *Schinus molle* (Anacardiaceae). *Madroño* 15: 14-24.
- CORKIDI, L., S. CACHO & A. BURQUEZ. 1991. Dispersión del pirú (*Schinus molle* L., Anacardiaceae) por aves en Teotihuacán, México. *Acta Bot. Mex.* 15: 17-22.
- CRUDEN, R. W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding. *Evol.* 31: 32-46.
- DAFNI, A. 1992. *Pollination ecology. A practical approach*. Princeton Univ. Press, Princeton.
- D'AMBROGIO DE ARGÜESO, A. 1986. *Manual de técnicas en histología vegetal*. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- DELPH, L. F. 1999. Sexual dimorphism in life history. En: GEBER, M. A., T. E. DAWSON & L. F. DELPH (eds.), *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*, pp. 149-173. Springer-Verlag, Heidelberg.
- DEMAIO, P., U. O. KARLIN & M. MEDINA. 2002. *Árboles Nativos del Centro de Argentina*. L.O.L.A., Buenos Aires.
- DEMAIO, P., U. O. KARLIN & M. MEDINA. 2015. *Árboles nativos de Argentina, tomo 1: Centro y Cuyo*. Ecoval Ediciones, Buenos Aires.
- ECKHART, V. M. 1999. Sexual dimorphism in owers and in orescences. En: GEBER, M. A., T. E. DAWSON & L. F. DELPH (eds.), *Gender and sexual dimorphism in owering plants*, pp. 123-148. Springer-Verlag, Berlin.
- FAEGRI, K. & L. VAN DER PIJL. 1979 *The principles of pollination ecology*, 3rd edition. Pergamon Press, Oxford.
- FRAGOSO, F. P. & E. M. VARANDA. 2011. Flower visiting insects of five tree species in a restored area of semideciduous seasonal forest. *Neotrop. Entomol.* 40: 431-435.
- JORDANO, P. 1988. Polinización y Variabilidad de la producción de semillas en *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). *Anales Jard. Bot. Madrid* 45: 213-231.
- JUÁREZ DE VARELA, F. & L. J. NOVARA. 2007. Anacardiaceae Lindl. *Aportes Botánicos de Salta, Serie Flora* 8: 1-27.
- KEARNS, C. A. & D. W. INOUE. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot.
- LEGNAME, P. R. 1982. Árboles indígenas del Noroeste Argentino. *Opera Lilloana* 34: 65-66.
- LENZI, M. & A. I. ORTIE. 2004 Fenología reproductiva, morfología e biología floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Biotemas* 17: 67-89.
- LIENERT, J. 2004. Habitat fragmentation effects on fitness of plant populations a review. *J. Nat. Conserv.* 12: 53-72.
- MÚLGURA, M. E. 2003. Anacardiaceae. En: KIESLING, R. (ed.), *Flora de San Juan* 2: 90. Estudio Sigma, Buenos Aires.
- MUÑOZ, J. de D. 2000. Anacardiaceae. En: HUNZIKER J. & A. ANTON (eds.), *Flora Fanerogámica Argentina* 65: 16-17.
- OPLER, P. A. & K. S. BAWA. 1978. Sex ratios in tropical forest trees. *Evol.* 32: 812-821.
- OTTONE, J. R. 2005. *Árboles forestales: prácticas de cultivo*. 1ª ed. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires.
- PALADINI, E. F. 1992. Observaciones culturales en vivero de árboles forestales en Mendoza. *Multequina* 1: 123-146.
- PEREIRA, M., F. F. CORREA, M. POLO, E. M. DE CASTRO, A. A. CARDOSO & F. J. PEREIRA. 2016. Seed germination of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) as related to its anatomy and dormancy alleviation. *Seed Sci. Res.* 1: 1-11.
- PIRATELLI J., E. C. M. PINA-RODRIGUES, E. GANDARA, B. SANTOS & L. G. S. COSTA. 1998. Biología da polinização de *Jacaratia spinosa* (AUBL) ADC. (Caricaceae) em mata residual do sudeste brasileiro. *Revista Brasil. Biol.* 58: 671-679.
- RAMÍREZ, N. & A. SERES. 1994. Plant reproductive biology of herbaceous monocots in Venezuelan tropical cloud forest. *Pl. Syst. Evol.* 190: 129-142.
- REGLAS INTERNACIONALES PARA EL ANÁLISIS DE SEMILLAS. 2016. *Introducción a las Reglas ISTA*. International Seed Testing Association (ISTA), Bassersdorf.
- THOMSON, J. D. & J. BRUNET. 1990. Hypotheses for the evolution of dioecy in seed plants. *Tree* 5: 11-16.
- TORRETA, J. P. & A. M. BASILIO. 2009 Dispersión polínica y éxito reproductivo de cuatro especies arbóreas de un bosque xerófito de Argentina. *Revista biol. trop.* 57: 1-2.
- WANNAN, B. S. & C. J. QUINN. 1990. Pericarp structure and generic affinities in the Anacardiaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 103: 225-252.
- WILLAN, R. L. 1991. *Guía para la manipulación de semillas forestales con especial referencia a los trópicos*. FAO, Roma.
- ZAPATER, M. A., V. H. AQUINO, C. B. FLORES & E. C. LOZANO (2018). Clarificaciones nomenclaturales y circunscripción taxonómica de *Schinus areira* (Anacardiaceae) en Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 53: 665-671.

Recibido el 9 de agosto de 2018, aceptado el 10 de octubre de 2018. Editor: Diego Gutiérrez.

EFECTO DE LOS NIDOS DE *ACROMYRMEX LOBICORNIS* (FORMICIDAE: MYRMICINAE) SOBRE LA DESCOMPOSICIÓN DE HOJARASCA, EN EL DESIERTO DEL MONTE

ANA LAURA NAVAS ROMERO^{1*}, MARIO ANDRÉS HERRERA MORATTA¹ y
MELINA ELIZABETH ZULIANI²

Summary: Effect of the nests of *Acromyrmex lobicornis* (Formicidae: Myrmicinae) on the decomposition of litter, in the "Monte" desert. Decomposition is a fundamental process of ecosystems. In arid and semi-arid environments these processes slow down due to unfavorable climatic conditions for microbial activity so that organisms such as ants become key because in their nests they accumulate organic matter as a result of their foraging activities. Our objective was to evaluate the influence of the nests of *Acromyrmex lobicornis* on the decomposition process of the surrounding material. We buried 42 bags of litter in seven shrubs with nest and seven shrubs without nest (three bags per bush). At 21, 35 and 55 days, the bags were removed, cleaned, weighed, dried and calcined. The rate of decomposition in nests of *A. lobicornis* was significantly lower than that of soils without anthills. The marked seasonality in the desert of Monte and the sterilization of the nest could be some of the causes.

Key words: Ants, arid zone, *Acromyrmex lobicornis*, *Bulnesia retama*, Formicidae, litter, *Larrea cuneifolia*, Myrmicinae, nests.

Resumen: La descomposición es un proceso fundamental de los ecosistemas. En ambientes áridos y semiáridos, estos procesos se ralentizan debido a las condiciones climáticas desfavorables para la actividad microbiana, por lo que, organismos como las hormigas se vuelven claves ya que en sus nidos acumulan materia orgánica como consecuencia de su actividad de forrajeo. Nuestro objetivo fue evaluar la influencia de los nidos de *Acromyrmex lobicornis* sobre el proceso de descomposición del material circundante. Se enterraron 42 bolsas de hojarasca en 7 arbustos con y sin hormiguero (tres bolsas por arbusto). A los 21, 35 y 55 días, las bolsas fueron retiradas, limpiadas, pesadas, secadas y calcinadas. La tasa de descomposición en nidos de *A. lobicornis* fue significativamente menor con respecto a la de suelos sin hormigueros. La marcada estacionalidad en el desierto del monte y la esterilización del nido podrían ser algunos de los causantes.

Palabras clave: *Acromyrmex lobicornis*, *Bulnesia retama*, Formicidae, hormigas, hojarasca, *Larrea cuneifolia*, Myrmicinae, nidos, zona árida.

INTRODUCCIÓN

La descomposición es uno de los procesos más importantes en los ecosistemas debido a su contribución de nutrientes al suelo, su repercusión en el carbono atmosférico global a través de la respiración microbiana y porque a través de la cadena de desintegradores fluye una cantidad

significativa de energía que puede acumularse en el suelo como mantillo y humus (Prescott, 2005; Zhang *et al.*, 2008).

La dinámica del proceso de descomposición ha sido ampliamente analizada en diferentes ecosistemas (Vitousek *et al.*, 1994; Torres *et al.*, 2005). En ambientes áridos, y en el desierto del monte en particular, los procesos de descomposición

¹ Instituto Argentino de Investigación de Zonas Áridas, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Mendoza, CP 5500, Argentina.

² Departamento de Análisis de Sistemas Complejos. Fundación Bariloche - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Río Negro, Argentina.

* anavas@mendoza-conicet.gob.ar

son muy lentos debido al bajo contenido de materia orgánica en los suelos como consecuencia de la baja biomasa vegetal, y condiciones climáticas desfavorables para la actividad microbiana (Bucher *et al.*, 2003; Torres *et al.*, 2005). El régimen escaso, variable e impredecible de las precipitaciones, presentes en estos sistemas, convierten a la disponibilidad de agua en uno de los factores más importantes que limitan el proceso de descomposición (Noy-Meir, 1973).

En estos ambientes, las hormigas cortadoras de hojas tendrían un rol clave en el proceso de descomposición (Farji-Brener & Werenkraut, 2017) debido a su capacidad para generar y concentrar grandes cantidades de desechos orgánicos e incrementar el N mineral y otros nutrientes del suelo (Rico-Gray & Oliveira, 2007; Bottinelli *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017). La contribución de materia orgánica de las hormigas cortadoras de hojas es de vital importancia en sitios donde la abundancia y la diversidad de materia orgánica es limitante, como en los sistemas desérticos (Farji-Brener, 2010). Los nidos de hormigas cortadoras son ricos en carbono orgánico y poseen mayor capacidad de retención de humedad que los suelos adyacentes (Farji-Brener & Ghermandi, 2004; Abril & Gómez, 2011). Estas hormigas tienen además la habilidad de modificar las propiedades físicas del suelo, aumentando la porosidad, la infiltración y la consistencia de los agregados del suelo (Davidson & Morton, 1981; Eldridge & Pickard, 1994). En consecuencia, ofrecen condiciones ideales para la reproducción y abundancia de la biota del suelo (Sousa-Souto *et al.*, 2012).

En las zonas áridas de Argentina, *Acromyrmex* es un género de hormigas cortadoras, que se distribuye en todo el desierto del Monte, marcando los límites de distribución latitudinal y altitudinal de la tribu *Attini* en la Argentina. Este género se caracteriza por escindir material vegetal vivo que es utilizado como sustrato para el cultivo de un hongo simbiótico, que constituye el alimento directo de la colonia. Sus nidos son de gran tamaño y de larga duración, y depositan sus desechos, ricos en materia orgánica, en el exterior del mismo (Weber, 1972; Hölldobler & Wilson, 1990). En los extremos de distribución, la única especie de hormiga cortadora que existe es *Acromyrmex lobicornis* Emery (Farji-Brener & Ruggiero, 1994). Su hábitat incluye ambientes con grandes variaciones térmicas como montes, desiertos y estepas (Farji-Brener & Ruggiero,

1994). Los nidos de *A. lobicornis* son más bien superficiales (Bollazzi *et al.*, 2008), con basureros externos grandes y conspicuos (Farji-Brener, 2000) y usualmente con un domo externo que minimiza la variabilidad climática ambiental (Farji-Brener & Sasal, 2003). Los nidos de *A. lobicornis* resultan así, sitios enriquecidos en nutrientes, con excelentes propiedades físico-químicas que le permitiría favorecer el ciclaje de nutrientes en estos sistemas (Farji-Brener & Ghermandi, 2000).

En el desierto del Monte son escasos los trabajos que evalúan el proceso de descomposición, concentrándose la mayoría sobre el efecto del parche de vegetación como isla de fertilidad (Pucheta *et al.*, 2006; Carretero *et al.*, 2007; Carrera *et al.*, 2009). Esto sumado a que un número de trabajos han demostrado un aumento de la fertilidad del suelo en nidos de hormigas debido al mayor aporte de nutrientes como consecuencia de sus actividades de forrajeo, (Culver & Beattie, 1983; Dean & Yeaton, 1993; McGinley *et al.*, 1994; Petal & Kusinska, 1994; Petal, 1998) y a que ninguno, para nuestro conocimiento, ha estudiado su efecto sobre la tasa de descomposición en el desierto del monte. El objetivo del presente trabajo fue conocer la tasa de descomposición de hojarasca de *Larrea cuneifolia* (CAB, 1800) en nidos de *Acromyrmex lobicornis* (Emery). Hipotetizamos que, los nidos de *A. lobicornis* incrementarán la tasa de descomposición de restos vegetales en el desierto del monte con respecto a sitios sin hormigueros.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se localiza en Los Médanos Grandes, departamento Caucete, San Juan (31° 43' Sur, 68° 08' Oeste). Pertenece a la Provincia Fitogeográfica del Monte (Cabrera, 1971). Tiene un clima seco y cálido, con inviernos fríos. La temperatura promedio para enero es de 25,1 °C y para julio 7,7 °C. Las precipitaciones son escasas y estivales (diciembre a marzo), alcanzando un promedio de 100 mm anuales. La vegetación está dominada por arbustos como *Bulnesia retama*, *Larrea divaricata*, *L. cuneifolia*, *Prosopis flexuosa*, *Capparis atamisquea* y *Senna aphylla*, formando parches de cobertura densa dispersos en una matriz de suelo desnudo.

Para determinar la tasa de descomposición a campo, se seleccionaron 7 individuos de *B. retama*

que presentaron hormigueros de *A. lobicornis* bajo su dosel. Los controles consistieron en 7 individuos de *B. retama* sin la presencia de hormigueros. Durante la elección de cada réplica, se buscó que los hormigueros y arbustos seleccionados fueran similares en dimensiones (1,5-2 y 2-2,5 m diámetro respectivamente). Se utilizó el método de bolsas de hojarasca de Caldentey *et al.* (2001). El tamaño de las bolsas fue de 10 x 10 cm y se construyeron usando telas mosquiteras plásticas con poros de 1 mm, para evitar la pérdida de material y, a su vez, permitir la entrada de microorganismos. Utilizamos como material de descomposición hojas verdes de arbustos adyacentes de *L. cuneifolia*. Las hojas fueron recolectadas y separadas manualmente de la planta. Una vez homogeneizadas, se secaron a estufa a 60 °C hasta peso constante. Aproximadamente 1 g de hojas de *L. cuneifolia* se colocaron en cada bolsa. En agosto del 2016 (estación invernal), en el sitio de estudio, se ubicaron 3 bolsas con hojarasca a 5 cm de profundidad dentro del nido de hormigas (entrada del nido). Ubicamos cada bolsa de modo tal que toda su superficie permaneció en contacto con el nido. Realizamos el mismo procedimiento en los arbustos sin la presencia de nidos de hormigas ubicando 3 bolsas de hojarasca a 5 cm de profundidad. Las bolsas con hojarasca se ubicaron a 15 cm de distancia del tronco en cada una de los parches replicados para cada tratamiento (2 tratamientos x 7 repeticiones x 3 bolsas de hojarasca). Para estimar la pérdida de masa de la hojarasca, las 3 bolsas de cada parche se extrajeron sucesivamente, la primera a los 21 días (31 de agosto), la segunda a los 35 días (15 de septiembre) y la tercera a los 55 días (10 de octubre). En laboratorio, siguiendo a Pucheta *et al.* (2006) se limpiaron las bolsas con cepillos, para retirar restos de suelo, luego se extrajo la hojarasca de las bolsas, y se la dejó secar durante 48 h a 60 °C. Cada muestra se pesó, y posteriormente se llevó a mufla a 400 °C. Luego de 4 h las muestras se dejaron enfriar en desecador para evitar la absorción de agua del medio y se pesaron nuevamente.

Conociendo el peso de la biomasa colocada inicialmente y de la retirada al final del período, se evaluó el porcentaje de peso seco remanente (PSR) para cada tratamiento y tiempo de incubación. Se estimó las tasas de descomposición (k) como las pendientes de las funciones exponenciales negativas para el PSR al aumentar el tiempo de incubación (Swift *et al.*, 1979). Se evaluó si los PSR

cumplían con los supuestos de una distribución normal. Las pendientes (k) de las curvas de descomposición para los diferentes tratamientos se compararon por medio de una ANOVA de medidas repetidas. Utilizamos el programa Infostat v2018 para realizar todos los análisis estadísticos y la confección de gráficos.

RESULTADOS

Las bolsas de hojarasca extraídas bajo la copa de *B. retama* con la presencia de hormigueros presentaron un mayor PSR que las muestras extraídas en ausencia de hormigueros. A los 21 días de incubación PSR en suelos sin hormigueros fue 2,5 veces menor a la de suelo con hormigueros. A los 35 días la diferencia entre tratamientos fue de 2,1 veces. Al finalizar el experimento, luego de 55 días de incubación, el PSR en suelos sin hormigueros fue del 67 % mientras que en suelos con hormigueros fue del 77 % (Tabla 1).

La descomposición de la hojarasca se ajustó significativamente a funciones exponenciales negativas para parches de suelo con y sin hormigueros bajo el dosel de *B. retama*; y sus pendientes (constantes de decaimiento k) fueron diferentes significativamente (Figura 1). Observamos mayores tasas de descomposición de la hojarasca en el dosel de *B. retama* en suelos sin hormigueros que en suelos con hormigueros (ANOVA de medidas repetidas, $F= 5,08$; $p< 0,009$; $n= 21$).

En cuanto la incidencia del tiempo de incubación sólo se encontraron diferencias significativas para el tratamiento sin hormigueros variando la tasa de descomposición significativamente entre los 21 y 55 días ($p< 0,032$) y entre los 35 y 55 días ($p< 0,039$).

Tabla 1. Peso seco remanente (%) para cada tratamiento (con nidos de *A. lobicornis* y sin nido) y tiempo de incubación.

Tiempo	Con Hormiguero			Sin Hormiguero		
	n	media	e.e.	n	media	e.e.
21 días	7	91,36	2,22	7	78,02	2,93
35 días	7	86,79	2,81	7	77,44	3,53
55 días	7	77,75	4,28	7	67,97	3,98

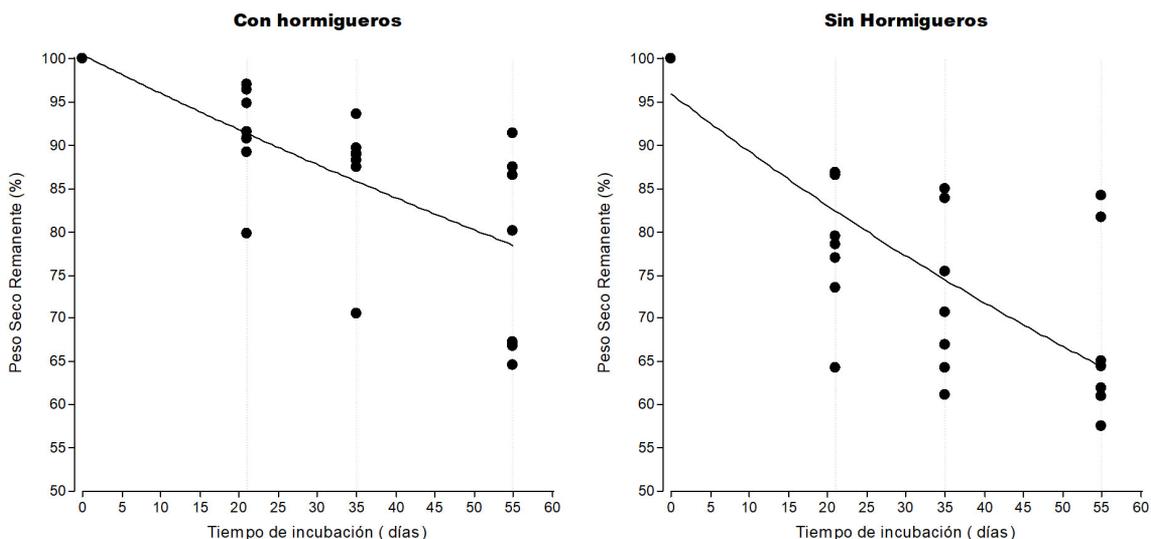


Fig. 1. Tasa de descomposición de la hojarasca enterrada (porcentaje de peso seco remanente) bajo el dosel de *B. retama* con la presencia o ausencia de hormigueros de *A. lobicornis* respectivamente, después de 21, 35 y 55 días de incubación (n = 7). Las funciones negativas de decaimiento exponencial de la forma $y = A^{(-k \cdot x)}$ son: $PSR_{ConHormigueros} = 101,47^{(-0,0048 \times \text{día})}$ ($R^2 = 69,15$; $p = 0,0001$); $PSR_{SinHormigueros} = 84,43^{(-0,004 \times \text{día})}$ ($R^2 = 81,97$; $p < 0,0001$).

DISCUSIÓN

Los nidos de *A. lobicornis* disminuyeron el proceso de descomposición de hojarasca de *L. divaricata*. La inhibición o estimulación de los procesos microbiológicos, por parte de las hormigas, depende del estado del proceso en el hábitat, el cual, a su vez, está fuertemente asociado con las condiciones climáticas y la calidad del alimento almacenado (Petal, 1978; Tadey & Farji-Brener, 2007). La marcada estacionalidad presente en el desierto del Monte podría influir en que los nidos de *A. lobicornis* exista una menor tasa de descomposición. Según Gonzalez-Polo *et al.* (2004) para el desierto del monte, en diferentes épocas del año la actividad microbiana varía tanto dentro como fuera del hormiguero. En el período invernal (julio-noviembre) se registran valores bajos de descomposición y similares entre micrositios. En el siguiente período (noviembre-enero), el incremento en las temperaturas y precipitaciones llevaría a un aumento de la descomposición en ambos micrositios, siendo significativamente mayor en los nidos de hormigas. Resultados similares han sido obtenidos por Minner *et al.* (2009) para el desierto del monte, al analizar la

dinámica de broza durante la estación de invierno en diferentes micrositios (parches de arbustos y suelo desnudo), donde no encontraron diferencias significativas, y por Vega Ávila *et al.* (2010) para el mismo sistema en la época invernal, al analizar la abundancia de microorganismo entre los distintos tipos de micrositios (parches de arbusto *B. retama*, *L. divaricata*, y suelo desnudo) y no encontrar variaciones ni grandes abundancias. Nuestro experimento estuvo comprendido en el período invernal-principio de primavera (agosto-octubre), durante esta época la actividad de forrajeo de las hormigas es casi nula, por lo que podría afectar directamente el contenido de materia orgánica, y a su vez la actividad microbiana. A esto debe sumarse las bajas temperaturas y humedades del suelo, y la disminución en la diversidad de la dieta de las hormigas que pareciera afectar directamente la actividad de los descomponedores (Fernández *et al.*, 2014). Así la diferencia resultante en contenido de materia orgánica, humedad, disponibilidad de alimento, sumadas a bajas temperaturas podrían estar limitando el proceso de descomposición en los nidos de *A. lobicornis*.

Por otra parte *A. lobicornis* realiza una frecuente y necesaria esterilización del nido que podría estar

impactando en el proceso de descomposición. Las hormigas cortadoras de hojas tienen en general varios comportamientos y mecanismos químicos para garantizar una limpieza rigurosa del sustrato, protegerse a sí mismas y a su hongo mutualista, evitando la proliferación de agentes patógenos o de hongos competidores (Poulsen *et al.*, 2006). Esto es esencial, ya que las condiciones óptimas para el hongo simbiótico, también son adecuadas para muchas bacterias patógenas y hongos (Powell & Stradling, 1986; Diehl-Fleig & Labres, 1993; Fisher *et al.*, 1996; Currie *et al.*, 1999). Entre los mecanismos asociados a las hormigas encontramos: gestión de residuos y limpieza activa del nido (Wilson & Hölldobler, 1980; Hölldobler & Wilson, 1990; Bot *et al.*, 2001; Currie & Stuart, 2001; Hart & Ratnieks, 2001), lamido con las partes bucales y cepillado con espinas de los protarsos (Perez & Vázquez Moreno, 2004), producción de antibióticos por bacterias mutualistas (Currie *et al.*, 1999, Currie, 2001), y la secreción de sustancias antifúngicas y antibacterianas por la glándula metapleural. Esta última sería la más importante de todas y se encuentra presente en el género *Acromyrmex* (Hölldobler & Engel-Siegel, 1984). La glándula metapleural ha sido implicada como una fuente importante de sustancias de defensa e higiénica tanto para el individuo como para la colonia (Beattie *et al.*, 1985, 1986, a, b). Estas glándulas producen una secreción que contiene más de 20 compuestos diferentes y se sabe que estos tienen propiedades bactericidas y fúngicas (Do Nascimento *et al.*, 1996; Ortius-Lechner *et al.*, 2000; Bot *et al.*, 2002; Poulsen *et al.*, 2002). La importancia y el rol como esterilizantes de estas glándulas ha sido ampliamente estudiado (Veal *et al.*, 1992; Ortius-Lechner *et al.*, 2000; Poulsen *et al.*, 2006). Así las hormigas mantienen, en la medida de lo posible, un entorno libre de competencia para el hongo mutualista eliminando constantemente otros hongos e infecciones microbianas (Bass & Cherrett, 1994), cumpliendo un rol controversial en la desactivación de los procesos de descomposición.

La diferencia en el porcentaje seco remanente entre tratamientos fue marcada al inicio del experimento y disminuyó progresivamente con el tiempo de incubación. Esta diferencia entre ambos, es atribuible a los factores abióticos que dominan la primera etapa del proceso de descomposición (primeros 30 días), como por

ejemplo el contenido de humedad, la exposición a radiación y variaciones térmicas (Camilleri & Ribí, 1986). Estos aparentemente se verían disminuidos en los nidos de *A. lobicornis*, que por sus características, reducirían la incidencia de la radiación y elevarían la hidrofobia impidiendo el mayor drenaje de agua (Cammeraat *et al.*, 2002). Los hormigueros requerirían pulsos largos para pasar el límite de hidrofobia, el cual es muy alto al inicio, por la elevada carga de material orgánico en el exterior (Cammeraat *et al.*, 2002; Wills & Landis, 2017), lo cual no sucede en el suelo descubierto (arenoso y sin mantillo). Hacia el final del experimento las diferencias se atenuaron, en esta etapa la descomposición es más lenta y mediada por poblaciones microbianas y fúngicas que requieren para iniciarse de mayor tiempo de incubación y condiciones óptimas rigurosas, las cuales también parecen ser desfavorables en los nidos de *A. lobicornis* (Farji-Brener *et al.*, 1995).

Así los suelos arenosos desérticos bajo arbustos de *B. retama* tendrían un mayor potencial de descomposición de hojarasca que los nidos de las hormigas cortadoras *A. lobicornis* en el periodo evaluado. Los nidos de hormigas jugarían un rol contradictorio en el ciclado de nutrientes, debido a su capacidad de movilizar grandes volúmenes de materia orgánica al interior de los hormigueros, afectando así el funcionamiento del ecosistema del Monte. La baja tasa de descomposición en los nidos de *A. lobicornis* podría generar un aumento en la retención de los nutrientes y una disminución en la cantidad de nutrientes disponibles para los productores primarios. Estos cambios afectarían procesos asociados como disminución en la germinación y presencia de plántulas, menor riqueza de especies y densidad de plantas (Carson & Peterson, 1990; Jensen & Meyer, 2001). Sin embargo, dada la complejidad de los sistemas naturales, y del rol que juegan las hormigas cortadoras en los procesos ecosistémicos (Farji-Brener *et al.*, 2017), son necesarios estudios a una escala de tiempo mayor.

AGRADECIMIENTOS

A la cátedra de Ecología II de la UNSJ, por guiarnos durante la realización del trabajo. A la Facultad de Ingeniería por su asistencia en el trabajo de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

- BASS, M. & J. CHERRETT. 1994. The role of leaf-cutting ant workers (Hymenoptera: Formicidae) in fungus garden maintenance. *Ecol. Entomol.* 19: 215–220.
- BEATTIE, A., C. TURNBULL, T. HOUGH & R. KNOX. 1985. The vulnerability of pollen and fungal spores to ant secretion: evidence and some evolutionary implications. *Amer. J. Bot.* 72: 606–614.
- BEATTIE, A., C. TURNBULL, T. HOUGH & R. KNOX. 1986. Antibiotic production: a possible function for the metapleural glands of ants *Myrmecia nigriscapa*, Hymenoptera: Formicidae. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 448–450.
- BOLLAZZI, M., J. KRONENBITTER & F. ROCES. 2008. Soil temperature, digging behaviour, and the adaptive value of nest depth in South American species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Oecologia* 158: 165–175.
- BOT, A., D. ORTIUS-LECHNER, K. FINSTER, R. MAILE & J. BOOMSMA. 2002. Variable sensitivity of fungi and bacteria to compounds produced by the metapleural glands of leaf-cutting ants. *Insectes Soc.* 49: 363–370.
- BOT, A., M. OBERMAYER, B. HÖLLDOBLER & J. BOOMSMA. 2001. Functional morphology of the metapleural gland in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus*. *Insectes Soc.* 48: 63–66.
- BOTTINELLI, N., P. JOUQUET, Y. CAPOWIEZ, P. PODWOJEWSKI, M. GRIMALDI & X. PENG. 2015. Why is the influence of soil macrofauna on soil structure only considered by soil ecologists?. *Soil Tillage Res.* 146: 118–124.
- BUCHER, E., P. TORRES & A. ABRIL. 2003. Litter quality and litter removal by the native fauna in the western Chaco woodland of Argentina. *J. Trop. Ecol.* 19: 337–341.
- CABRERA, A. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 14: 1–42.
- CALDENTEY, J., M. IBARRA & J. HERNÁNDEZ. 2001. Litter fluxes and decomposition in *Nothofagus pumilio* stands in the region of Magallanes, Chile. *Forest Ecol. Manag.* 148: 145–157.
- CAMILLERI, J. & G. RIBI. 1986. Leaching of dissolved organic carbon (DOC) from dead leaves, formation of flakes from DOC, and feeding on flakes by crustaceans in mangroves. *Mar. Biol.* 91: 337–344.
- CAMMERAAT, L., S. WILLOTT, S. COMPTON & L. INCOLL. 2002. The effects of ants' nests on the physical, chemical and hydrological properties of a rangeland soil in semi-arid Spain. *Geoderma* 105: 1–20.
- CARRERA, A., M. MAZZARINO, M. BERTILLER, H. DEL VALLE & E. MARTINEZ CARRETERO. 2009. Plant impacts on nitrogen and carbon cycling in the Monte phytogeographical province, Argentina. *J. Arid Environ.* 73: 192–201.
- CARSON, W. & C. PETERSON. 1990. The role of litter in an old-field community: impact of litter quantity in different seasons on plant species richness and abundance. *Oecologia* 85: 8–13.
- CULVER, D. & A. BEATTIE. 1983. Effects of ant mounds on soil chemistry and vegetation patterns in a Colorado Montane Meadow. *Ecology* 64: 485–492.
- CURRIE, C. & A. STUART. 2001. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. *Proc. R. Soc. London, Ser. B* 268: 1033–1039.
- CURRIE, C., U. MUELLER & D. MALLOCH. 1999. The agricultural pathology of ant fungus gardens. *PNAS* 96: 7998–8002.
- DAVIDSON, D. & S. MORTON. 1981. Competition for dispersal in ant-dispersed plants. *Science* 213: 1259–1261.
- DEAN, W. & R. YEATON. 1993. The effects of harvester ant *Messor capensis* nest-mounds on the physical and chemical properties of soils in the Southern Karoo, South Africa. *J. Arid Environ.* 25: 249–260.
- DIEHL-FLEIG, E. & M. LABRES. 1993. Fungi isolated from leaf-cutting ants *Atta sexdens piriventris* and *Acromyrmex heyeri* (Hymenoptera: Formicidae): Mucor effects on *Beauveria bassiana* entomopathogen. *Ciênc. Cult.* 45: 142–144.
- DONASCIMENTO, R., E. SCHOETERS, E. MORGAN, J. BILLEN & D. STRADLING. 1996. Chemistry of metapleural gland secretions of three attine ants, *Atta sexdens rubropilosa*, *Atta cephalotes*, and *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Chem. Ecol.* 22: 987–1000.
- ELDRIDGE, D. & J. PICKARD. 1994. Effects of ants on sandy soils in semi-arid eastern Australia: II. Relocation of nest entrances and consequences for bioturbation. *Aust. J. Soil Res.* 32: 323–333.
- FARJI-BRENER, A. 2000. Leaf-cutting ant nests in temperate environments: mounds, mound damages and nest mortality rate in *Acromyrmex lobicornis*. *Stud. Neotrop. Fauna Environ.* 35: 131–138.
- FARJI-BRENER, A. 2010. Leaf-cutting ant nests and soil biota abundance in a semi-arid steppe of NW Patagonia. *Sociobiology* 56: 549–557.
- FARJI-BRENER, A. & A. RUGGIERO. 1994. Leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) inhabiting Argentina: patterns in species richness and geographical range sizes. *J. Biogeogr.* 21: 391–399.
- FARJI-BRENER, A. & J. SILVA. 1995. Leaf-cutting ant nests and soil fertility in a well-drained savanna in western Venezuela. *Biotropica* 27: 250–254.

A. L. Navas Romero *et al.* - Descomposición en nidos de *Acromyrmex lobicornis*

- FARJI-BRENER, A. & L. GHERMANDI. 2000. Influence of nests of leaf-cutting ants on plant species diversity in road verges of northern Patagonia. *J. Veg. Sci.* 11: 453-460.
- FARJI-BRENER, A. & L. GHERMANDI. 2004. Seedling recruitment in a semi-arid Patagonian steppe: Facilitative effects of refuse dumps of leaf-cutting ants. *J. Veg. Sci.* 15: 823-830.
- FARJI-BRENER, A. & V. WERENKRAUT. 2017. The effects of ant nests on soil fertility and plant performance: a meta-analysis. *J. Anim. Ecol.* 86: 866-877.
- FARJI-BRENER, A. & Y. SASAL. 2003. Is dump material an effective small-scale deterrent to herbivory by leaf-cutting ants? *Ecoscience* 10: 151-154.
- FERRARI, L., F. DE LA TORRE, S. DEMICHELIS, M. GARCÍA & A. SALIBIÁN. 2014. Ecotoxicological assessment for receiving waters with the premetamorphic tadpoles acute assay. *Chemosphere* 59: 567-575.
- FISHER, P., D. STRADLING, B. SUTTON & L. PETRINI. 1996. Microfungi in the fungus gardens of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*: A preliminary study. *Mycol. Res.* 100: 541-546.
- GONZALEZ-POLO, M., P. FOLGARAIT & A. MARTÍNEZ. 2004. Evaluación estacional del efecto de los nidos de *Camponotus punctulatus* sobre la biomasa y la actividad microbiana en una pastura subtropical de Argentina. *Ecol. Aust.* 14: 149-163.
- HART, A. & F. RATNIEKS. 2001. Task partitioning, division of labour and nest compartmentalisation collectively isolate hazardous waste in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 49: 387-392.
- HOLDOBLER, B. & H. ENGEL-SIEGEL. 1984. On the metapleural glands of ants. *Psyche* (Stuttg.) 91: 201-224.
- HÖLDOBLER, B. & E. WILSON. 1990. *The Ants*. 1st ed. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg.
- JENSEN, K. & C. MEYER. 2001. Effects of light competition and litter on the performance of *Viola palustris* and on species composition and diversity of an abandoned fen meadow. *Plant Ecol.* 155: 169-181.
- LI, T., M. SHAO & Y. JIA. 2017. Effects of activities of ants (*Camponotus japonicus*) on soil moisture cannot be neglected in the northern Loess Plateau. *Agric. Ecosyst. Environ.* 239: 182-187.
- MARTINEZ CARRETERO, E., A. DALMASSO & S. TRIONE. 2007. Carbon Storage in *Larrea divaricata* and *L. cuneifolia* (Zygophyllaceae) in Drylands of Central-Western Argentina. *Arid Land Res. Manag.* 21: 273-285.
- MCGINLEY, M., S. DHILLION & J. NEUMANN. 1994. Environmental heterogeneity and seedling establishment: ant-plant-microbe interactions. *Funct. Ecol.* 8: 607-615.
- MINER, A., J. ALVAREZ, P. VILLAGRA & J. ARANIBAR. 2010. Dinámica temporal de la masa de broza en distintos microhábitats del desierto del Monte Central (Mendoza, Argentina). *Rev. Fac. Cienc. Agrar.* 42: 55-69.
- NOY-MEIR, I. 1973. Desert ecosystems: environment and producers. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 4: 25-51.
- ORTIUS-LECHNER, D., R. MAILE, E. DAVID MORGAN & J. BOOMSMA. 2000. Metapleural gland secretion of the leaf-cutter ant *Acromyrmex octospinosus*: New compounds and their functional significance. *J. Chem. Ecol.* 26: 1667-1683.
- PEREZ, N. & L. VAZQUEZ MORENO. 2004. Manejo ecológico de plagas. En: PEREZ, N. (ed.), *Transformando el Campo cubano. Avances de la agricultura sostenible*, pp. 191-223. La Habana. Cuba: Universidad Agraria de La Habana. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural.
- PETAL, J. 1978. The role of ants in ecosystems. In: BRIAN M. V. (Ed.), *Production ecology of ants and termites*, pp. 293-325. Cambridge University Press, London.
- PETAL, J. 1998. The influence of ants on carbon and nitrogen mineralization in drained fen soils. *Appl. Soil Ecol.* 9: 271-275.
- PETAL, J. & A. KUSINSKA. 1994. Fractional composition of organic-matter in the soil of anthills and of the environment of meadows. *Pedobiologia* 38: 493-501.
- POULSEN, M., A. BOT, M. NIELSEN & J. BOOMSMA. 2002. Experimental evidence for the costs and hygienic significance of the antibiotic metapleural gland secretion in leaf-cutting ants. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 52: 151-157.
- POULSEN, M., W. HUGHES & J. BOOMSMA. 2006. Differential resistance and the importance of antibiotic production in *Acromyrmex echinator* leaf-cutting ant castes towards the entomopathogenic fungus *Aspergillus nomius*. *Insect Soc.* 53: 349-355.
- POWELL, R. & D. STRADLING. 1986. Factors influencing the growth of *Attamyces bromatificus*, a symbiont of attine ants. *T. Brit. Mycol. Soc.* 87: 205-213.
- PRESCOTT, C. 2005. Do rates of litter decomposition tell us anything we really need to know?. *For. Ecol. Manage.* 220: 66-74.
- PUCHETA, E., M. LLANOS, C. MEGLIOLI, M. GAVIORNO, M. RUIZ & C. PARERA. 2006. Litter decomposition in a sandy Monte desert of western Argentina: influences of vegetation patches and summer rainfall. *Austral Ecol.* 31: 808-816.
- RICO-GRAY, V. & P. OLIVEIRA. 2007. *The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions*. University of Chicago Press, Chicago.

- SOUSA-SOUTO, L., D. SANTOS, B. AMBROGI, M. SANTOS, M. GUERRA & E. PEREIRA-FILHO. 2012. Increased CO₂ emission and organic matter decomposition by leaf-cutting ant nests in a coastal environment. *Soil Biol. Biochem.* 44: 21-25.
- TADEY, M. & A. FARJI-BRENER. 2007. Indirect effects of exotic grazers: Livestock decreases the nutrient content of refuse dumps of leaf-cutting ants through vegetation impoverishment. *J. Appl. Ecol.* 44: 1209–1218.
- TORRES, P., A. ABRIL & E. BUCHER. 2005. Microbial succession in litter decomposition in the semi-arid Chaco woodland. *Soil Biol. Biochem.* 37: 49-54.
- VEAL, D., J. TRIMBLE & A. BEATTIE. 1992. Antimicrobial properties of secretions from the metapleural glands of *Myrmecia gulosa* (the Australian Bull Ant). *J. Appl. Bacteriol.* 72: 188–194.
- VEGA ÁVILA, Á., M. TORO, M. BAIGORI, L. FERNÁNDEZ & F. VÁZQUEZ. 2010. Influencia de la vegetación en la variación espacial de la abundancia de microorganismos en el desierto del Monte, San Juan, Argentina. *Ecol. Aus.* 20: 247-256.
- VITOUSEK, P., D. TURNER, W. PARTON & R. SANFORD. 1994. Litter decomposition on the mauna loa environmental matrix Hawaii: Patterns, mechanisms, and models. *Ecology* 75: 418–429.
- WEBER, N. 1972. The fungus culturing behavior of ants. *Am. Zool.* 12: 577–587.
- WILLS, B. & D. LANDIS. 2017. The role of ants in north temperate grasslands: a review. *Oecologia* 186: 1-16.
- WILSON, E. & B. HOLLDOBLER. 1980. Sex differences in cooperative silk spinning by weaver ant larvae. *PNAS* 77: 2343-2347.
- ZHANG, D., D. HUI, Y. LUO & G. ZHOU. 2008. Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. *J. Plant Ecol.* 1: 85-93.

Recibido el 25 de junio de 2018, aceptado el 24 de septiembre de 2018. Editor: Omar Varela.

NOVEDADES DEL GÉNERO *TILLANDSIA* (BROMELIACEAE, TILLANDSIOIDEAE) PARA URUGUAY

ANDRÉS J. ROSSADO^{1*}, SABINA DONADÍO², PABLO BERAZATEGUI³ y JOSÉ M. BONIFACINO^{1,4}

Summary: Novelties in the genus *Tillandsia* (Bromeliaceae, Tillandsioideae) for Uruguay. *Tillandsia capillaris* Ruiz & Pav. (= *T. capillaris* f. *hieronymi* (Mez) L.B. Sm.) and *T. loliacea* Mart. ex Schult. are reported for the first time for the flora of Uruguay. *Tillandsia capillaris* is registered as an introduced and spontaneous species for Montevideo city, while *T. loliacea* is cited as native for northwestern Uruguay. *Tillandsia tricholepis* Baker is reported for the first time for natural environments in Uruguay, establishing its status as native. The recent finding of *Tillandsia xiphioides* Ker Gawl in Uruguay is reported after 73 years without being collected. We provide morphological descriptions, distribution and habitat data, phenology, conservation assessment, and images for each species treated.

Key words: *Diaphoranthema*, epiphyte, epilithic, flora of Uruguay.

Resumen: Se citan por primera vez para la flora de Uruguay a *Tillandsia capillaris* Ruiz & Pav. (= *T. capillaris* f. *hieronymi* (Mez) L.B. Sm.) y *T. loliacea* Mart. ex Schult. f. *Tillandsia capillaris* es registrada como una especie introducida y espontánea para la ciudad de Montevideo, mientras que *T. loliacea* es citada como especie nativa del noroeste del país. Se presenta el primer registro de *T. tricholepis* Baker para ambientes naturales de Uruguay, confirmando el estatus de especie nativa. Se reporta el hallazgo reciente de *T. xiphioides* Ker Gawl luego de 73 años sin ser colectada en Uruguay. Este trabajo provee una descripción morfológica para cada especie, incluyendo información sobre su hábitat, distribución geográfica, fenología, estatus de conservación e imágenes.

Palabras clave: *Diaphoranthema*, epífita, epilítica, flora de Uruguay.

INTRODUCCIÓN

Tillandsia L. es el género con mayor número de especies y de más amplia distribución dentro de la familia Bromeliaceae. Este género comprende 739 especies (Gouda *et al.*, continuamente actualizado) de plantas herbáceas de hábito epífita y/o epilítico, que se distribuyen desde el sur de Estados Unidos hasta el centro de Argentina y Chile (Smith & Downs, 1977; Zizka *et al.*, 2009; Barfuss *et al.*, 2016; IBODA, continuamente actualizado). De acuerdo al estudio filogenético y la reciente revisión taxonómica de la subfamilia Tillandsioidea, *Tillandsia* ha sido clasificado en siete subgéneros y varios complejos de especies (Barfuss *et al.*, 2016).

En Uruguay, *Tillandsia* es uno de los cinco géneros nativos de la familia Bromeliaceae y el único representante de la subfamilia Tillandsioideae. Este género se distribuye por todo el país y es uno de los componentes más importantes de la flora epifítica y epilítica de Uruguay, habitando todos los tipos de formaciones boscosas, así como también las principales formaciones rocosas. En la flora uruguaya *Tillandsia* está representado por 17 especies incluidas en cuatro subgéneros; *Aerobia* Mez, *Anoplophytum* (Beer) Baker, *Diaphoranthema* (Beer) Baker, y *Phytarrhiza* (Vis.) Baker. Del total de las especies dos son endémicas de Uruguay (*T. arequitae* (André) André ex Mez y *T. uruguayensis* Rossado) y dos exóticas y subespontáneas en

¹ Laboratorio de Sistemática de Plantas Vasculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

² Instituto de Botánica Darwinion (CONICET-ANCEFN), San Isidro, Buenos Aires, Argentina.

³ Asociación civil COENDU (Conservación de Especies Nativas de Uruguay), Montevideo, Uruguay.

⁴ Laboratorio de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

* arossado@fcien.edu.uy

ambientes urbanos (*T. virescens* Ruiz & Pav. (= *T. cordobensis* Hieron.) y *T. capillaris* Ruiz & Pav.).

El objetivo del presente trabajo es dar a conocer las novedades respecto al género *Tillandsia* para Uruguay. En este sentido se reportan a *Tillandsia capillaris* (*sensu* Till, 1989a; Castello & Galletto, 2013; Castello *et al.*, 2016) y *T. loliacea* Mart. ex Schult. f. como nuevos registros para el país, se confirma el estatus de *T. tricholepis* Baker como especie nativa para Uruguay y se presenta el hallazgo reciente de *T. xiphioides* Ker Gawl. luego de 73 años de haber sido colectada por última vez en el país. Este trabajo incluye para cada una de estas cuatro especies una descripción morfológica, acompañada de imágenes y datos sobre hábitat, distribución geográfica, fenología, y estatus de conservación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos incluidos en este trabajo se obtuvieron a partir de la revisión de ejemplares de herbario (BA, BAB, CTES, HAS, HDCE, ICN, LP, MVFA, MVFQ, MVJB, MVM, PACA, PEL, SI; Thiers, continuamente actualizado), salidas de campo realizadas entre 2012 y 2014, y plantas mantenidas bajo cultivo.

Para la identificación de las especies se consultó bibliografía de referencia (Castellanos, 1945; Smith, 1972; Smith & Downs, 1977; Castello & Galletto, 2013; Donadio *et al.*, 2015), protólogos y ejemplares tipo. Adicionalmente, se compararon las muestras procedentes de Uruguay con ejemplares de herbario procedentes de Argentina, Bolivia, Brasil y Paraguay. Los ejemplares colectados en este trabajo fueron depositados en MVFA, MVJB y MVM. La terminología morfológica utilizada para la descripción de las especies está basada en Smith & Downs (1977), adaptado según Scharf & Gouda (2008) y Barfuss *et al.* (2016).

La evaluación del estatus de conservación para cada especie sigue el sistema de clasificación propuesto por IUCN (2012), que clasifica a las especies en categorías de riesgo de extinción desde baja a elevada: Preocupación Menor, Casi Amenazada, Vulnerable, En Peligro, y En Peligro Crítico. Con el fin de poder asignarle a cada especie dichas categorías a nivel nacional, es que se aplicó el criterio de Rango geográfico a través de la evaluación del Área de ocupación

(“Area of occupancy”; AOO) (IUCN, 2012). Consideramos al AOO un buen estimador de la distribución real de las especies aquí tratadas ya que presentan distribución discontinua dentro del país. El AOO fue estimado mediante el software GeoCAT—Geospatial Conservation Assessment Tool (Bachman *et al.*, 2011) utilizando un ancho de celda de 2 km. Para estos análisis sólo se tomaron en cuenta los registros en ambientes naturales.

RESULTADOS

Tillandsia capillaris Ruiz & Pav., *Fl. Peruv.* 3: 42, pl. 271c. 1802. Tipo: PERÚ. Huánuco, s.d., Ruiz & Pavón s.n. (*Sintypus* B-W06336-010!, BM000923922!, BM000923923!, BM000923925!, F0361001F!, MA810425!, MA810426!, MA810427!, MA810428!, P00753185!). Fig. 1A-C.

Plantas epífitas, caulescentes, muy ramificadas desde la base y formando matas globosas muy densas de hasta 11 cm de diámetro. **Tallos** de hasta 8 cm de largo pero comúnmente más cortos. **Hojas** dispuestas dísticamente, distribuidas a lo largo del tallo; *vainas* 5,5-10 × 2,7-4 mm, cara abaxial lepidota en su mitad apical, cara adaxial mayormente glabra; *láminas* 8-17 mm de largo y 0,7-1,1 mm de diámetro, lineares, teretes, no acanaladas o si acanaladas por menos del $\frac{1}{6}$ basal, densamente lepidotas. **Inflorescencias** unifloras, excepcionalmente bifloras, sobresaliendo poco de la masa foliar; *pedúnculos* 13-70 mm de largo y 0,3-0,4 mm de diámetro, ebracteados o con una bráctea basal de aspecto foliáceo, glabros; *brácteas florales* envolviendo la flor, con pequeña porción laminar o elaminadas; vaina (3,2-) 3,8-5,4 × 2,8-4 mm, anchamente elíptica a anchamente elíptico-ovada, adpresa, de verdosa con tintes vináceos a pajiza, glabra, ápice ampliamente redondeado; porción laminar de hasta 3 mm de largo pero generalmente menor a 2 mm, lepidota. **Flores** 6-8,5 mm de largo, aroma suave; *sépalos* 4-6 × 1,3-1,7 mm, angostamente elípticos a angostamente oblongos, ecarenados, verdes en la base y vináceos hasta rojizos hacia el ápice o vináceos en toda su extensión, glabros, ápice obtuso a redondeado, sépalos adaxiales fusionados con el abaxial por 0,6-1,0 mm, adaxiales fusionados entre sí por 1,6-1,9 mm (menos de la mitad de su largo); *pétalos* 7,2-8,2 × 0,9-1,3 mm, ligulados, amarillos, la porción apical

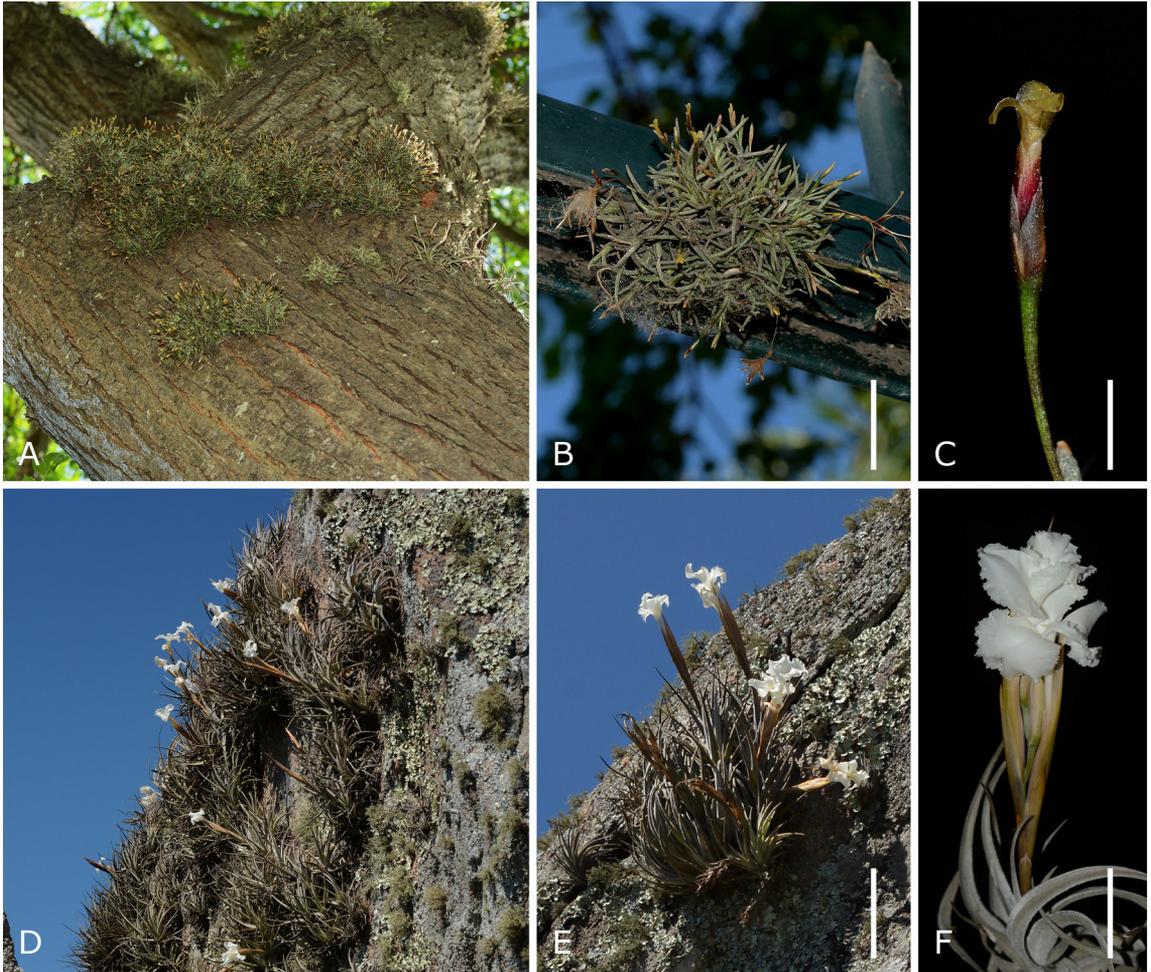


Fig. 1. A-C: *Tillandsia capillaris*. **A:** Ejemplares sobre arbolado público (ciudad de Montevideo, Uruguay). **B:** Individuo en floración (ciudad de Montevideo, Uruguay). **C:** Detalle de la inflorescencia. **D-F:** *Tillandsia xiphioides*. **D:** Población en ambiente natural (departamento de San José, Uruguay). **E:** Individuo en floración (departamento de San José, Uruguay). **F:** Detalle de la inflorescencia. Escalas= B: 2,5 cm; C: 3,5 mm; E: 7 cm; F: 2 cm. Imágenes A-F de Andrés Rossado.

con pequeñas manchas vináceas poco perceptibles, ápice redondeado, margen entero; *estambres* 3,2-3,6 mm de largo, profundamente incluidos, filamentos rectos; *pistilo* 1,8-2,3 mm de largo, no superando a los estambres. **Cápsulas** 12-22 × 0,7-1 mm, cilíndricas, ápice trunco a trunco-obtuso y cortamente apiculado.

Clasificación. *Tillandsia capillaris* pertenece al subgénero *Diaphoranthema*.

Distribución y hábitat. *Tillandsia capillaris* es una especie nativa de Perú, Bolivia, Chile y Argentina (con un registro para Ecuador; Till,

1989a; Krömer *et al.*, 1999; Castello *et al.*, 2016; IBODA, continuamente actualizado). En Uruguay se la encuentra como una especie exótica naturalizada para los departamentos de Colonia (un solo registro para el A° Riachuelo) y Montevideo (Fig. 2), donde se desarrolla en zonas urbanas de forma espontánea sobre diferentes sustratos como troncos y ramas del arbolado público, tendido eléctrico, paredes y rejas (Fig. 1A-B). *Tillandsia capillaris* suele cohabitar en un mismo soporte con *T. aëranthos* (Loisel.) L.B. Sm. y especies de aspecto general similar, como *T. recurvata* (L.) L. y *T. virescens* (= *T. cordobensis*), con las que se la puede confundir fácilmente. A su

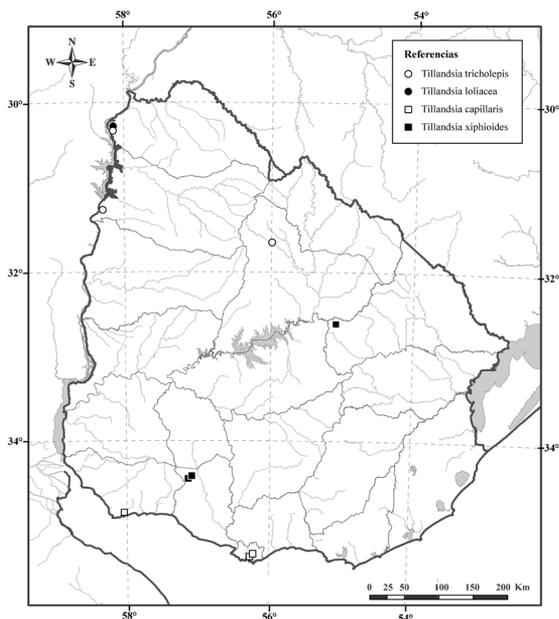


Fig. 2. Mapa de distribución de *Tillandsia capillaris* (cuadrados blancos), *T. loliacea* (círculo negro), *T. tricholepis* (círculos blancos) y *T. xiphioides* (cuadrados negros) en Uruguay. En el caso de *T. tricholepis* los puntos en los departamentos de Salto y Tacuarembó corresponden a poblaciones en zonas urbanas.

vez, ocasionalmente se pueden observar densas comunidades monoespecíficas de *T. capillaris* sobre el tronco o las ramas principales de los árboles de la ciudad (Fig. 1A).

Fenología. En Uruguay, *Tillandsia capillaris* florece en noviembre y diciembre, fructifica a partir de diciembre y se mantiene en fruto hasta octubre o noviembre del siguiente año.

Estatus de conservación. Dado que *Tillandsia capillaris* constituye una especie exótica para Uruguay, no aplica evaluar su estatus de conservación.

Observación I. En este trabajo seguimos la propuesta taxonómica de Till (1989a), Castello & Galletto (2013), y Castello *et al.* (2016), en la cual el complejo *Tillandsia capillaris* quedó circunscripto, en base a evidencia morfológica y molecular, a dos especies: *T. capillaris* y *T. virescens*. La entidad presente en Uruguay, aquí tratada como *T.*

capillaris, corresponde a lo que Smith & Downs (1977) consideraron como *T. capillaris* f. *hieronymi* (Mez) L.B. Sm.

Observación II. Posiblemente *Tillandsia capillaris* ha pasado desapercibida para la flora de Montevideo (Smith, 1972; Lombardo, 1984; Brito & Llano, 2008) debido a la gran similitud morfológica que posee con *T. virescens*, especie epífita y exótica que también se comporta como espontánea para la ciudad de Montevideo. *Tillandsia capillaris* se puede diferenciar claramente de *T. virescens* por la presencia de brácteas florales de vainas glabras (vs. densamente lepidotas) y sépalos adaxiales fusionados entre sí por menos de la mitad de su longitud (vs. más de $\frac{2}{3}$ de su longitud). Adicionalmente, dentro de la variación existente en Uruguay, *T. capillaris* se distingue de *T. virescens* por formar matas más compactas, poseer láminas más cortas, de 8-17 mm de largo (vs. 18-46 mm), sépalos de hasta 6 mm de largo (vs. mayores a 6 mm), pétalos de 0,9-1,3 mm de ancho (vs. 1,4-2,5 mm), y frutos de hasta 1 mm de ancho (vs. mayores a 1 mm). Es importante destacar que *T. virescens* puede tener láminas y sépalos más cortos, y frutos más angostos en otras áreas de su distribución. A su vez, los pedúnculos de las plantas de *T. virescens* presentes en Uruguay son acrescentes, característica no observada en las plantas de *T. capillaris* presentes en el país. Por otro lado, en Uruguay, *T. capillaris* y *T. virescens* presentan diferencias en su fenología. *Tillandsia capillaris* florece de noviembre a diciembre mientras que *T. virescens* florece de agosto a octubre.

Tillandsia capillaris presenta cierta afinidad morfológica con *T. recurvata*, de la cual se diferencia claramente por formar matas más compactas, poseer láminas no acanaladas, o si acanaladas, por menos del $\frac{1}{6}$ basal (vs. acanaladas al menos en el $\frac{1}{5}$ basal), pedúnculos ebracteados (si hay bráctea ésta es basal y de aspecto foliáceo) y glabros (vs. al menos con una bráctea peduncular en zona media y/o apical, y lepidotos o sublepidotos), y brácteas florales de vainas glabras (vs. lepidotas a densamente lepidotas).

Observación III. Smith (1972) y Brito & Llano (2008) citan para Uruguay a *Tillandsia capillaris* (bajo el nombre de *Tillandsia capillaris* f. *capillaris*) en base al ejemplar Marchesi 1240 (MVM). Este ejemplar fue examinado y corresponde a *T. virescens*

tal como había sido identificado por Marchesi (1965; bajo el nombre *T. cordobensis*). De esta manera se descarta el reporte de *T. capillaris* para Uruguay hasta el presente trabajo.

Observación IV. Consideramos a *Tillandsia capillaris* una especie exótica para Uruguay ya que la especie nunca fue registrada en ambientes naturales del país. Hasta el momento sólo se la ha encontrado creciendo en ambientes urbanos. Las poblaciones naturales de *T. capillaris* más cercanas a Uruguay se hallan en la zona sur de la provincia de Buenos Aires.

Material examinado. ARGENTINA. *Prov. Córdoba:* Dpto. Colón, Ascochinga, 6-IV-1939, Giardelli 1191 (SI); *Dpto. Santa María,* Alta Gracia, I-1933, Fisher s.n. (BAA 7697); *Dpto. Santa María,* camino a dique de Los Molinos, 50 km al S de Córdoba, 30-II-1958, Boelcke 7625 (BAA). *Prov. Santiago del Estero:* Dpto. Guasayán, Sierra de Guasayán, II-1945, Parodi 15040 (BAA). URUGUAY. *Dpto. Colonia:* Riachuelo, X-1949, Fabris & Gebhard 67c (LP). *Dpto. Montevideo:* Ciudad de Montevideo, 15-XII-1972, Morey s.n. (MVFA 11894); Ciudad de Montevideo, Barrio Aires Puros, 22-III-2014, Rossado & Haretche 352 (MVFA); Ciudad de Montevideo, Barrio Aires Puros, 16-XI-2014, Rossado 404 (MVFA); Ciudad de Montevideo, Barrio Brazo Oriental, 26-III-2017, Rossado 479 (MVJB).

Tillandsia loliacea Mart. ex Schult. f. in Roem. & Schult., *Syst. Veg.* 7(2): 1204. 1830. Tipo: BRASIL. Bahía: "Habitat in rupibus M. Sancti", 1818, Martius s.n. (*Holotypus* M0111403!). Fig. 3A, B, D.

Plantas epífitas, muy cortamente caulescentes (de apariencia acaule), de tallo único o algo ramificadas desde la base constituyendo pequeñas matas. **Hojas** dispuestas espiraladamente, formando roseta basal; *vainas* 2-3,5 × 3-4,5 mm, glabras; *láminas* 11-30 × 2,5-7 mm, angostamente triangulares, densamente lepidotas, cara adaxial cóncava (lámina acanalada). **Inflorescencias** simples, conformadas por un racimo de flores dísticas; *pedúnculos* 16-70 mm de largo y 0,6-0,8 mm de diámetro, casi totalmente ocultos por las brácteas, lepidotas; *brácteas pedunculares* 5 a 6, envolventes, levemente más largas que los

entrenudos, densamente lepidotas, las apicales elaminadas o con muy pequeña porción laminar a modo de acumen. **Racimos** 13-40 mm de largo (excluyendo pétalos), portando 3 a 7 flores sublaxamente dispuestas; *raquis* en su mayor parte expuesto, flexuoso, densamente lepidoto; *brácteas florales* 4-10 × 3-4,6 mm, envolviendo la flor, elíptico-oblongas, elaminadas o con muy pequeña porción laminar a modo de acumen, no imbricadas, desde apenas superando el entrenudo hasta 1,5 veces más largas que el entrenudo, verde grisáceas, densamente lepidotas, ápice agudo. **Flores** ca. 10 mm de largo, sin aroma; *sépalos* 5-8,2 × 1,5-1,9 mm, angostamente elípticos, ecarenados, igualmente fusionados por ca. 1 mm, verdes a vináceos, glabros a veces con tricomas hacia el ápice, ápice obtuso a redondeado; *pétalos* ca. 8 × 1,5 mm, ligulados, amarillos, ápice redondeado, margen entero; *estambres* ca. 3,5 mm de largo, profundamente inclusos, filamentos rectos; *pistilo* 2-2,8 mm de largo, muy inclusivo, no superando a los estambres. **Cápsulas** 22-34 × 1,2-1,8 mm, cilíndricas, ápice trunco y cortamente apiculado.

Clasificación. *Tillandsia loliacea* pertenece al subgénero *Diaphoranthema*.

Distribución y hábitat. *Tillandsia loliacea* se distribuye en Bolivia, Brasil, Paraguay, Argentina y Uruguay (Smith & Downs, 1977; Till, 1989b; Krömer *et al.*, 1999; Büneker *et al.*, 2015; Flora do Brasil 2020, en construcción; IBODA, continuamente actualizado). En Uruguay, hasta el momento, sólo se ha registrado una única población para el norte del país, en el oeste del departamento de Artigas, en una zona cercana al Río Uruguay; límite con la provincia de Corrientes, Argentina (Fig. 2). Allí, *T. loliacea* crece exclusivamente como epífita, en un bosque de planicie, transicional entre el bosque ribereño y el bosque parque (bosque seco dominado por especies de *Prosopis* L.), sobre especies arbóreas como *Coccoloba argentinensis* Speg. y *Ruprechtia laxiflora* Meisn. En dicho bosque se desarrolla a media sombra, y cohabita con otras especies del género, como *T. aëranthos*, *T. bandensis* Baker, *T. recurvata*, y *T. tricholepis*.

A partir de los registros de herbario y los datos de distribución citados por Smith & Downs (1977) y Till (1989b), se concluye que el norte de Uruguay y el sur de la provincia de Corrientes (Argentina) representan el límite sur de distribución de la especie.



Fig. 3. *Tillandsia loliacea* y *T. tricholepis*. **A:** Vista general del hábitat en bosque de planicie (litoral del departamento de Artigas, Uruguay). **B:** *Tillandsia loliacea*, planta en floración y fructificación *in situ* (litoral del departamento de Artigas, Uruguay). **C:** *Tillandsia tricholepis*, planta con frutos *in situ* (litoral del departamento de Artigas, Uruguay). **D:** *Tillandsia loliacea*, detalle de la inflorescencia. **E:** *Tillandsia tricholepis*, detalle de la inflorescencia. Escalas= B: 2 cm; C: 2,5 cm; D: 1 cm; E: 0,5 cm. Imagen A de Federico Haretche, Imágenes B-E de Andrés Rossado.

Fenología. No se tienen datos suficientes para determinar la fenología de *Tillandsia loliacea* para Uruguay. Ejemplares en flor fueron observados en setiembre y en fruto en marzo, julio y setiembre.

Estatus de conservación. *Tillandsia loliacea* fue categorizada en el análisis de AOO como en peligro crítico de extinción para Uruguay. Hasta el momento sólo se ha registrado una población de esta especie representada por menos de 10 individuos. Estos individuos se encuentran habitando un

parque de bosque de escasa extensión (aprox. 2 ha) expuesto a fuertes presiones agrícolas. Dada esta situación, consideramos importante incluir a *T. loliacea* en el listado de especies prioritarias para la conservación de Uruguay. Cabe destacar que *T. loliacea* no se encuentra presente en ninguna de las áreas protegidas del “Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Uruguay”.

Observación I. Ejemplares juveniles o adultos poco desarrollados de *Tillandsia loliacea* pueden ser

confundidos con plantas de *T. tricholepis* de escaso desarrollo. Estas especies se pueden diferenciar en estado juvenil por el aspecto de la lámina en su cara adaxial, siendo acanalada en *T. loliacea* y plana a convexa en *T. tricholepis*. En estado adulto, *T. loliacea* se diferencia claramente de *T. tricholepis*, por su hábito acaulescente (vs. caulescente), por poseer láminas más largas y anchas (al menos 11 mm de largo y 2,5 mm de ancho vs. menores a 9 mm de largo y 2 mm de ancho), y pedúnculos y raquis lepidotos a densamente lepidotos (vs. glabros).

Observación II. Castellanos (1945) incluye a Uruguay como parte de la distribución geográfica de *Tillandsia loliacea*. Sin embargo, en su trabajo no existen citas de ejemplares de herbario que avalen dicha afirmación.

Material examinado. ARGENTINA. *Prov. Chaco:* Dpto. General Güemes, entre Colonia Castelli y Fortín Lavalle, 18-I-1949, Ragonese & Castiglioni 7111 (BAB). *Prov. Corrientes:* Dpto. Mercedes, Estancia Culantrillar, Laguna Trin, 75 km al N de Mercedes, 17-24-X-1975, Schinini *et al.* 11688 (CTES). *Prov. Jujuy:* Dpto. El Carmen, Pampa Blanca, 29-I-1937, Castellanos s.n. (BA 20257). BOLIVIA. *Dpto. Tarija:* *Prov. O'Connor,* Puerto Margarita, Río Pilcomayo, 3-V-1983, Krapovickas & Schinini 39123 (CTES). BRASIL. *Edo. Rio Grande do Sul:* *Mun. São Fransisco de Assis,* Fazenda do Nei Paz, 16-XII-2013, Büneker & Witeck 247 (HDCF). PARAGUAY. *Dpto. Alto Paraguay:* Parque Nacional Defensores del Chaco, 11-III-2005, Fortunato *et al.* 8719 (BAB). URUGUAY. *Dpto. Artigas:* Arrocería RIUSA- al sur del Arroyo Mandiyú, 28-IX-2014, Villagrán *et al.* s.n. (MVJB 30693).

Tillandsia tricholepis Baker, *J. Bot.* 16: 237. 1878. Tipo: BOLIVIA. La Paz: Larecaja, "Vicinús Sorata; Poquerani, San Pedro, super frutices", 2500-2650 m, X-1858-IV-1959, *Mandon 1179 p.p.* (*Sintypus* BM000923944!, US000911251!, S-R-6158!, [G-DC] G-00493947!, K000321947!, P00438698!, P00438696!, P00438697!, MPU-012478!, G00098166!, LE00006310!, W 1889-0262564!). Fig. 3A, C, E.

Plantas epífitas, caulescentes, ramificadas desde la base, con aspecto de musgo, formando matas subdensas. **Tallos** hasta 22 cm de largo,

pero generalmente más cortos. **Hojas** dispuestas espiraladamente, distribuidas a lo largo del tallo; *vainas* 2-3,5 × (2,7-) 3,3-4,2 mm, glabras; *láminas* 4-9 × 0,9-1,8 mm, angostamente triangulares, densamente lepidotas, cara adaxial plano-convexa a convexa. **Inflorescencias** simples, conformadas por un racimo de flores dísticas; *pedúnculos* 10-40 mm de largo y ca. 0,5 mm de diámetro, en su mayor parte ocultos por las brácteas (parcialmente expuestos), glabros; *brácteas pedunculares* 2 (3), envolventes, aproximadamente del largo de los entrenudos, densamente lepidotas, las basales por lo general con pequeña porción laminar, las apicales elaminadas. **Racimos** 9-18 mm de largo (excluyendo pétalos), portando (1) 2 a 4 (5) flores densamente dispuestas, a veces con una flor estéril en el ápice; *raquis* visible, parcialmente oculto por brácteas y flores, levemente flexuoso, glabro; *brácteas florales* 3,8-8 × 3-4,2 mm, envolviendo la flor, ovadas a anchamente ovadas, elaminadas, no imbricadas, desde apenas superando el entrenudo hasta 2 veces más largas que el entrenudo, verdes a verde grisáceas, lepidotas a densamente lepidotas, ápice agudo. **Flores** 7-9 mm de largo, sin aroma; *sépalos* 5-7 × 1,4-2 mm, angostamente elípticos, ecarenados, igualmente fusionados por 0,9-2 mm, verdes, lepidotos a sublepidotos en la mitad apical, ápice agudo a obtuso; *pétalos* 6,4-7,8 × 0,7-1,3 mm, ligulados, amarillos, ápice redondeado, margen entero; *estambres* 3,2-4,3 mm de largo, profundamente inclusos, filamentos rectos; *pistilo* 1,8-2,9 mm de largo, incluso, no superando a los estambres. **Cápsulas** (11-) 14-20 × ca. 0,8-1,1 mm, cilíndricas, ápice trunco y cortamente apiculado.

Clasificación. *Tillandsia tricholepis* pertenece al subgénero *Diaphoranthema*.

Distribución y hábitat. *Tillandsia tricholepis* se distribuye en Bolivia, Paraguay, Brasil, Argentina y Uruguay (Smith & Downs, 1977; Till, 1989b; Krömer *et al.*, 1999; Flora do Brasil 2020, en construcción; IBODA, continuamente actualizado). En Argentina la especie posee amplia distribución y en cuanto a la cercanía con Uruguay, está presente en toda la provincia de Corrientes llegando hasta el norte de la provincia de Entre Ríos. En Uruguay, *T. tricholepis* hasta el momento había sido registrada sólo como espontánea en parques urbanos en las ciudades de Salto y de Tacuarembó. Este trabajo reporta el primer registro

de la especie en ambientes naturales del país, en el oeste del departamento de Artigas, próximo al límite con Argentina (provincia de Corrientes) (Fig. 2). Allí se desarrolla de forma epífita en un bosque de planicie, transicional entre el bosque ribereño y el bosque parque, creciendo sobre troncos y ramas de variadas especies arbóreas como *Coccoloba argentinensis*, *Ruprechtia laxiflora* y *Sebastiania* sp., así como en la cactácea *Harrisia bonplandii* (Parm. ex Pfeiff.) Britton & Rose. Esta población de *T. tricholepis* es de escasa extensión pero está representada por un número elevado de individuos, desde adultos formando matas grandes y de tallos largos, hasta juveniles y plántulas de escaso desarrollo.

En base al buen estado de conservación del bosque donde fue encontrada la especie y teniendo en cuenta la distribución de la especie en Argentina, consideramos a *T. tricholepis* como una especie nativa para Uruguay.

Fenología. En Uruguay, *Tillandsia tricholepis* florece desde diciembre a mediados de enero. La especie se encuentra en fruto desde enero hasta octubre-noviembre, meses donde ocurre la dehiscencia de las cápsulas.

Estatus de conservación. *Tillandsia tricholepis* fue categorizada en el análisis de AOO como en peligro crítico de extinción para Uruguay. Hasta el momento sólo se ha registrado una población natural de esta especie, habitando un parche de bosque de escasa extensión (aprox. 2 ha) ubicado en un área bajo fuerte presión de actividades agrícolas. Dada esta situación, consideramos que *T. tricholepis* debe ser tratada como una especie prioritaria para la conservación en Uruguay. Cabe destacar que *T. tricholepis* no se encuentra presente en ninguna de las áreas protegidas del “Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Uruguay”.

Observación. *Tillandsia tricholepis* es la única especie de *Tillandsia* presente en Uruguay con aspecto de musgo o licofta de pequeño porte. Este carácter la hace fácilmente identificable de las restantes especies de *Tillandsia* presentes en el país. Sin embargo, ejemplares poco desarrollados de *T. tricholepis* pueden ser confundidos con ejemplares de pequeño porte de *T. loliacea*. Las diferencias entre ambas especies se especifican en la sección *Observaciones* de *T. loliacea*.

Material examinado. ARGENTINA. *Prov. Corrientes*: Dpto. Esquina, Ruta 27, 27 Km S de Esquina, 1-XII-1974, Krapovickas *et al.* 27065 (CTES); Dpto. Mercedes, Macrosistema Iberá, estancia Rincón del Diablo, 4-XII-1998, Schinini *et al.* 8267 (CTES). *Prov. Entre Ríos*: Dpto. La Paz, Estancia Pto. Márquez, 8-XII-1986, Guaglianone *et al.* 297 (SI); La Paz, I-1960, Burkart & Bacigalupo 21511 (SI). *Prov. Santiago del Estero*: Dpto. Guasayán, Sierra del Guasayán, Quebrada de Conzo, 21-III-1989, Ulibarri 1648 (SI). BOLIVIA. *Dpto Tarija*: *prov. Gran Chaco*, 30 km N de Tacuiba, 7-IV-1977, Krapovickas & Schinini 30975 (CTES). BRASIL. *Edo. Paraná*: *Mun. Foz do Iguazu*, Cataratas del Iguazú, 14-I-1963, Marchesi 1042 (MVFA). *Edo. Rio Grande do Sul*: *Mun. Santa Cruz do Sul*, Trombudo, Morro dos Carrapatos, 6-XII-1991, Waechter 2511 (PEL); *Mun. São Leopoldo*, 21-XI-1940, Leite 1896 (PACA). PARAGUAY. *Dpto Cordillera*: Cerro Tobatí, 19-XII-1987, Zardini & Degen 4013 (CTES). URUGUAY. *Dpto. Artigas*: Establecimiento RIUSA, 16-III-2013, Villagrán & Berazategui s.n. (MVM 23003); Paraje San Gregorio, Arrocería RIUSA, próximo a la costa del Río Uruguay, al S del Arroyo Mandiyú, 21-VII-2013, Villagrán *et al.* s.n. (MVJB 30517). *Dpto. Salto*: Ciudad de Salto, Parque Solari, s.d, Del Puerto & Ziliani s.n. (MVFA 17390); Parque Solari, 20-VI-2007, Brito & Llano s.n. (MVFQ s.n.). *Dpto. Tacuarembó*: Plaza de la ciudad de Tacuarembó, 27-IX-2009, Brussa s.n. (MVJB 27154); Ciudad de Tacuarembó, Parque Rodó (planta bajo cultivo), 8-IX-2014, Rossado 363 (MVFA).

Tillandsia xiphioides Ker Gawl., *Bot. Reg.* 2: pl. 105. 1816. Tipo: Ilustración en el trabajo original (*Holotypus* pl. 105 en Ker Gawler (1816)). Fig. 1D-F.

Plantas epilíticas, raramente epífitas, desde acaulescentes a caulescentes, de tallo único o ramificadas desde la base, formando matas de hasta 60 cm de diámetro. **Tallos** generalmente cortos a veces hasta 25 cm de largo. **Hojas** dispuestas espiraladamente, agrupadas en el ápice del tallo; *vainas* 15-24 × 14-20 mm, cara abaxial densamente lepidota con zona basal glabra, cara adaxial glabra a excepción de zona apical densamente lepidota; *láminas* 85-180 × 10-20 mm, angostamente triangulares a muy angostamente

triangulares, planas o a veces cóncavas (lámina acanalada), densamente lepidoto-tomentosas. **Inflorescencias** simples, conformadas por un racimo de flores dísticas; *pedúnculos* (35-) 55-140 (-165) mm de largo y ca. 2,5-3 mm de diámetro, totalmente ocultos por brácteas, glabros; *brácteas pedunculares* 5 a 9, envolventes, densamente imbricadas, las basales de aspecto foliáceo y subglabras a lepidotas, las apicales elaminadas o muy cortamente laminadas y glabras o subglabras. **Racimos** 60-150 mm de largo (excluyendo pétalos), portando de 2 a 10 flores densamente dispuestas; *raquis* mayormente oculto por brácteas y flores, levemente flexuoso, glabro; *brácteas florales* (45-) 50-84 × 10-17 mm, envolviendo la flor, angostamente triangular-elípticas a angostamente ovado-elípticas, elaminadas, densamente imbricadas, de 4 a 6 veces más largas que el entrenudo, excediendo ampliamente en longitud a los sépalos, verde-amarillentas a moradas, glabras, ocasionalmente las basales con pocos tricomas dispersos, ápice agudo. **Flores** 65-100 mm de largo, aroma intenso y dulce; *sépalos* 32-48 × 5-12 mm, angostamente elípticos a angostamente elíptico-ovados, igualmente fusionados por 0,3-0,8 mm (aparentando libres), glabros, ápice agudo a angostamente agudo, sépalo abaxial ecarenado, sépalos adaxiales carenados; *pétalos* 85-110 mm de largo, espatulados, blancos; limbo 17-30 mm de ancho, ápice agudo a redondeado, margen ondulado y fuertemente crenado; *estambres* 55-76 mm de largo, inclusos (llegando ca. la garganta de la corola), filamentos rectos; *pistilo* 64-96 mm de largo, exserto, superando a los estambres. **Cápsulas** 25-35 × 4-5 mm, angostamente elipsoides o angostamente elipsoide-ovoides, ápice agudo y cortamente apiculado.

Clasificación. *Tillandsia xiphioides* pertenece al subgénero *Aerobia*.

Distribución y hábitat. *Tillandsia xiphioides* se distribuye en Bolivia, Brasil, Argentina y Uruguay (Smith & Downs, 1977; Krömer *et al.*, 1999; Flora do Brasil 2020, en construcción; IBODA, continuamente actualizado). En Uruguay *T. xiphioides* es una especie de distribución muy restringida que se encuentra mayormente como epilitica, formando matas grises, muy ramificadas y densas, o inclusive plantas de tallo único, que crecen sobre paredones rocosos o bloques de

roca expuestos a pleno sol. Generalmente forma comunidades monoespecíficas, aunque es común que crezca junto a especies de cactáceas o incluso junto a *T. aëranthos*. A su vez, esporádicamente se encuentran ejemplares epifitos sobre árboles próximos a las rocas donde la especie es más abundante.

Hasta el presente en Uruguay sólo se han encontrado dos poblaciones de *Tillandsia xiphioides* distantes entre sí (aproximadamente 240 km), en los departamentos de Cerro Largo y San José (Fig. 2). Cabe destacar que no se han registrado poblaciones cercanas a las de Uruguay ni en Brasil, ni en Argentina. Las poblaciones más cercanas a las presentes en el país se encuentran en la provincia de Córdoba (Argentina).

Fenología. *Tillandsia xiphioides* florece en primavera, principalmente desde mediados de octubre hasta mediados de noviembre. Las plantas fructifican mayormente a partir de noviembre.

Estatus de conservación. *Tillandsia xiphioides* fue categorizada en el análisis de AOO como en peligro de extinción para Uruguay. Esta especie posee una alta probabilidad de desaparecer de los ambientes naturales del país si no se toman las medidas adecuadas de protección. Esto se debe no sólo a la distribución restringida de la especie dentro de Uruguay (dos localidades) sino también a la fuerte presión de colecta que sufre por parte de los coleccionistas, debido a su alto valor como planta ornamental.

Tillandsia xiphioides está incluida en el listado de las especies prioritarias para la conservación en Uruguay (Marchesi *et al.*, 2013) bajo los criterios de “Especies de distribución restringida en Uruguay” y “Especies que han sufrido una disminución apreciable en su tamaño poblacional, por acciones humanas”. Cabe destacar que esta especie no se encuentra presente en ninguna de las áreas protegidas del “Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Uruguay”.

Observación I. *Tillandsia xiphioides* fue colectada por última vez para Uruguay por Chebataroff en 1939 (Chebataroff s.n., MVM 11129) en la Sierra de Mahoma (departamento de San José), única localidad donde, hasta el momento, la especie había sido registrada para el país. *Tillandsia xiphioides* fue considerada extinta por Brito & Llano (2008) para

la Sierra de Mahoma luego de haber explorado sin éxito el área en diferentes épocas del año. En exploraciones realizadas entre 2012 y 2014 encontramos a *T. xiphioides* no sólo para el departamento de San José sino también para el departamento de Cerro Largo, confirmando de este modo la presencia de la especie para el país.

De todas maneras, cabe destacar que Brito & Llano (2008) citan a *T. xiphioides* subsp. *xiphioides* y *T. xiphioides* var. *minor* L. Hrom. para el departamento de Tacuarembó (Uruguay). Luego de haber estudiado detalladamente la morfología de las entidades citadas en dicho trabajo, llegamos a la conclusión de que las mismas no corresponden a la especie *T. xiphioides* sino que se trata de la especie recientemente descrita: *T. uruguayensis* (Rossado *et al.*, 2018). *Tillandsia xiphioides* se diferencia fácilmente de *T. uruguayensis* por presentar flores más grandes, de aroma intenso (vs. sin aroma), sépalos mayores o iguales a 32 mm de largo (vs. menores a 30 mm), y pétalos mayores o iguales a 85 mm de largo (vs. menores a 60 mm), de limbo igual o mayor a 17 mm de ancho (vs. menor a 11 mm) y fuertemente crenado (vs. suavemente crenado hasta entero).

Observación II. Dentro de las especies de *Tillandsia* presentes en Uruguay, *T. arequitae* es la que más se asemeja a *T. xiphioides* tanto a nivel vegetativo como reproductivo. *Tillandsia xiphioides* se diferencia de *T. arequitae* por la presencia de brácteas florales basales de 45-84 mm de longitud (vs. 24,5-39 (-44) mm), sépalos mayores o iguales a 32 mm de largo (vs. iguales o menores a 30 mm), pétalos mayores o iguales a 85 mm de largo (vs. menores a 70 mm) y limbo del pétalo igual o mayor a 17 mm de ancho (vs. igual o menor a 11 mm), entre otras características. Es de notar que, aunque *T. arequitae* y *T. xiphioides* habitan ambientes similares, hasta el momento no se las ha encontrado cohabitando.

Observación III. Los frutos de *Tillandsia xiphioides* suelen pasar muy desapercibidos debido a que se encuentran totalmente ocultos por las brácteas florales que envuelven y superan ampliamente en longitud al fruto.

Material examinado. ARGENTINA. *Prov. Catamarca:* Dpto. Valle Viejo, El Portezuelo, 9-XII-1972, Ulibarri 242 (SI). *Prov. Córdoba:*

Dpto. Cruz del Eje, Serrezuela, 8-XII-1942, Bartlett 19223 (SI). *Prov. Mendoza:* Dpto. San Rafael, entre Punta de Agua y La Pintada, XII-1933, Ragonese s.n. (BA 12545). *Prov. San Juan:* Dpto. Valle Fértil, Ischigualasto, 19-XI-1982, Kiesling & Saenz 4280 (SI). *Prov. San Luis:* Dpto. Belgrano, Villa General Roca, 19-XI-1926, Castellanos s.n. (BA 26/2052). *Prov. Salta:* Dpto. Cafayate, Valle del Cafayate, 7-I-1914, Rodríguez 1252 (LP). *Prov. Tucumán:* Dpto. Trancas, entre Tapias y Vipos, 28-XI-1920, Venturi 1316 (LP). URUGUAY. *Dpto. Cerro Largo:* Cerca de Paso Pereira, 2-XI-2014, Rossado *et al.* 384 (MVFA). *Dpto. San José:* Sierra de Mahoma, XII-1894, señorita de Larriera s.n. (Herb. Osten 3122, MVM s.n.); Sierra de Mahoma, 1939, Chebataroff s.n. (MVM 11129); Sierra de Mahoma, 17-XI-2012, Rossado *et al.* 24 (MVJB); Sierra de Mahoma, 22-X-2014, Rossado 377 (MVFA).

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento a Federico Haretche quien aportó datos acerca de la presencia de *Tillandsia capillaris* para Montevideo, a Carlos Brussa por presentar y facilitar datos de presencia de *T. xiphioides* en Uruguay, y especialmente a Eduardo Villagrán quien participó en el nuevo registro a campo de *T. loliacea* y *T. tricholepis*. A su vez, agradecemos a los revisores del artículo por sus aportes y a todos los curadores de los herbarios visitados (BA, BAB, CTES, HAS, HDCE, ICN, LP, MVFA, MVJB, MVM, PACA, PEL, SI) por su predisposición y amabilidad a la hora de coordinar y efectuar las visitas.

BIBLIOGRAFÍA

- BARFUSS, M. H. J., W. TILL, E. M. C. LEME, J. P. PINZÓN, J. M. MANZANARES, H. HALBRITTER, R. SAMUEL & G. K. BROWN. 2016. Taxonomic revision of Bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. *Phytotaxa* 279: 1-97.
- BACHMAN, S., J. MOAT, A. W. HILL, J. DE LA TORRE & B. SCOTT. 2011. Supporting Red List threat assessments with GeoCAT: geospatial conservation assessment tool. (Version BETA). In: SMITH V. & L. PENEV (eds) e-Infrastructures for data publishing in biodiversity science. *ZooKeys* 150: 117-126. Disponible en: <<http://geocat.kew.org/>>. [Acceso 15 marzo 2017].

A. J. Rossado *et al.* - Novedades de *Tillandsia* para Uruguay

- BRITO, A.H. & L. LLANO. 2008. *Bromelias del Uruguay*. Ed. Linardi y Risso, Montevideo.
- BÜNEKER, H. M., R.C. PONTES & L. WITECK. 2015. Novos registros em *Tillandsia* L. (Bromeliaceae, Tillandsioideae) para o Rio Grande do Sul, Brasil. *Rodriguésia* 66: 493-498.
- CASTELLANOS, A. 1945. Bromeliaceae. In: DESCOLE H. R. (Ed) *Genera et species plantarum Argentinae* 3: 105-378. Guillermo Kraft Ltda., Buenos Aires.
- CASTELLO, L. V. & L. GALETTO. 2013. How many taxa can be recognized within the complex *Tillandsia capillaris* (Bromeliaceae, Tillandsioideae)? Analysis of the available classifications using a multivariate approach. *PhytoKeys* 23: 25- 39.
- CASTELLO, L.V., M. H. J. BARFUSS, W. TILL, L. GALETTO & J.O. CHIAPELLA. 2016. Disentangling the *Tillandsia capillaris* complex: phylogenetic relationships and taxon boundaries in Andean populations. *Bot. J. Linn. Soc.* 181: 391-414.
- DONADÍO, S., R. POZNER, & L. M. GIUSSANI. 2015. Phylogenetic relationships within *Tillandsia* subgenus *Diaphoranthema* (Bromeliaceae, Tillandsioideae) based on a comprehensive morphological dataset. *Pl. Syst. Evol.* 301: 387-410.
- FLORA DO BRASIL 2020. En construcción. Jardim Botânico do Rio de Janeiro [online]. Disponible en: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB6362> [Acceso: 15 febrero 2018].
- GOUDA, E. J., D. BUTCHER & C. S. GOUDA. Continuamente actualizado. Encyclopaedia of Bromeliads, version 3. University Botanic Gardens, Utrecht. Disponible en: <http://encyclopedia.florapix.nl/> [Acceso: 25 julio 2018].
- IBODA. Continuamente actualizado. Base de datos. Flora del Cono Sur. Instituto de Botánica Darwinion. Buenos Aires, Argentina [online]. Disponible en: <http://www2.darwin.edu.ar/> [Acceso: 15 febrero 2018].
- IUCN. 2012. *IUCN Red List Categories and Criteria*, Version 3.1. 2nd ed. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge.
- KER GAWLER, J. B. 1816. *The Botanical Register* 2. James Ridgway, Piccadilly, London.
- KRÖMER, T., M. KESSLER, B. K. HOLST, H. E. LUTHER, E. J. GOUDA, P. L. IBISCH, W. TILL & R. VÁSQUEZ. 1999. Checklist of Bolivian Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana* 20: 201-223.
- LOMBARDO, A. 1984. *Flora Montevidensis*. Tomo 3, *Monocotiledóneas*. Intendencia Municipal de Montevideo, Montevideo.
- MARCHESI, E., E. ALONSO PAZ, L. DELFINO, M. GARCÍA, F. HARETCHE & C. BRUSSA. 2013. Plantas Vasculares. In: SOUTULLO, A., C. CLAVIJO & J. A. MARTÍNEZ-LANFRANCO (eds.) *Especies prioritarias para la conservación en Uruguay. Vertebrados, moluscos continentales y plantas vasculares*, pp. 27-71. SNAP/DINAMA/MVOTMA y DICYT/MEC, Montevideo.
- MARCHESI, E. H. 1965. Plantas nuevas o poco conocidas de la flora Uruguaya I. *Comun. Bot. Mus. Hist. Nat. Montevideo* 4:1-3.
- ROSSADO, A. J., S. DONADÍO & J. M. BONIFACINO. 2018. *Tillandsia uruguayensis* (Tillandsioideae, Bromeliaceae), a new epilithic species from Uruguay. *Phytotaxa* 345: 133-142.
- SCHARF, U. & E. J. GOUDA. 2008. Bringing Bromeliaceae back to homeland Botany. *J. Bromeliad Soc.* 58: 123-129.
- SMITH, L. B. 1972. Flora del Uruguay IV. Bromeliaceae. *Comun. Bot. Mus. Hist. Nat. Montevideo* 4: 1-31.
- SMITH, L. B. & R. J. DOWNS. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotrop.* 14: 659-1492.
- THIERS, B. Continuamente actualizado. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium [online]. Disponible en: <http://sweetgum.nybg.org/ih/>. [Acceso: 20 diciembre 2017].
- TILL, W. 1989a. Die Untergattung *Diaphoranthema* (Beer) C. Koch von *Tillandsia* Linnaeus. 1, Das *Tillandsia capillaris* Aggregat. *Die Bromelie* 2: 31-34.
- TILL, W. 1989b. Die Untergattung *Diaphoranthema* (Beer) C. Koch von *Tillandsia* Linnaeus. 2, Das *Tillandsia loliacea* Aggregat. *Die Bromelie* 3:55-59.
- ZIZKA, G., M. SCHMIDT, K. SCHULTE, P. NOVOA, R. PINTO & K. KÖNIG. 2009. Chilean Bromeliaceae: diversity, distribution and evaluation of conservation status. *Biodivers. Conserv.* 18: 2449-2471.

Recibido el 8 de mayo de 2018, aceptado el 28 de agosto de 2018. Editora: Carolina I. Calviño.

IDENTIDAD TAXONÓMICA DE LOS 'TALAS': ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE *CELTIS TALA* Y *CELTIS PALLIDA* (CELTIDACEAE)

JORGELINA ASMUS^{1,2*}, DÉBORA CHAMORRO^{1,2}, VIRGINIA Y. MOGNI^{1,2}, LUIS J. OAKLEY^{1,3}
y DARIÉN E. PRADO^{1,2}

Summary: Taxonomic Identity of the 'talas': Morphological analysis of *Celtis tala* and *Celtis pallida* (Celtidaceae). The genus *Celtis* (Celtidaceae) comprises around 70 temperate to tropical woody taxa. In Argentina there appear four species, all of them belonging in the subgenus *Mertensia* Planch., whose inter and intraspecific morphological variability and similarity has generated widespread taxonomic confusions. One of the most emblematic cases is that of *C. ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm., considered a very ample taxon encompassing both *C. pallida* Torr. and *C. tala* Gillies ex Planch. Given that both latter entities are clearly distinguishable in the field, a morphological and taxonomic revision was performed. After extensive sampling, a detailed morphological study and through a Principal Components and Conglomerates Analysis, it was concluded that what is considered as *C. ehrenbergiana* in Argentina, actually involves three entities: *C. tala*, *C. pallida* var. *pallida* and *C. pallida* var. *discolor* Hunz. & Dottori, and the rehabilitation of those taxa is proposed. The Variance and Similarity Analysis results support significant differences (p-value <0.05) between groups. The following relevant taxonomical characters were established: habit of the individual, bark pattern, pubescence of leaf blades, nerves and petioles, stipular spines/spiny branches, domacia aspect and abundance. Besides, some *C. pallida* specimens are morphologically intermediate between both varieties, and therefore their proper identity will be clarified through the use of molecular tools.

Key words: *Celtis*, taxonomic revision, morphological study, Chaco, Espinal.

Resumen: El género *Celtis* L. (Celtidaceae) comprende unos 70 taxones de árboles o arbustos de regiones templadas y tropicales. En la Argentina habitan cuatro especies, todas pertenecientes al subgénero *Mertensia* Planch., cuya similitud y variabilidad inter e intraespecíficas han generado confusiones taxonómicas dentro del grupo. Un caso emblemático es el de *C. pallida* Torr. y *C. tala* Gillies ex Planch., considerados sinónimos de *C. ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm. Como estas entidades son claramente diferenciables a campo, se realizó la revisión taxonómica de dichos taxones. Tras un extenso muestreo, un estudio morfológico detallado y a través de un Análisis de Componentes Principales y de Conglomerados, se concluyó que lo considerado en Argentina como *C. ehrenbergiana*, abarca tres entidades: *C. tala*, *C. pallida* var. *pallida* y *C. pallida* var. *discolor* Hunz. & Dottori, y se propone la rehabilitación de dichos taxones. Asimismo, los resultados de los Análisis de la Varianza y de Similitud corroboran diferencias significativas (p-valor < 0.05) entre grupos. Se establecieron como caracteres de mayor importancia taxonómica: porte de los individuos, textura de corteza, pilosidad de láminas, nervaduras y pecíolos, espinas estipulares/ramas espinosas, abundancia y aspecto de domacios. Además, algunos especímenes de *C. pallida* son morfológicamente intermedios entre ambas variedades, por lo cual su identidad será esclarecida por medio del uso de herramientas moleculares.

Palabras clave: *Celtis*, revisión taxonómica, estudio morfológico, Chaco, Espinal.

¹ Botánica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, C.C. N°14, 2125 Zavalla, Argentina.

² Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias, IICAR CONICET-UNR, 2125 Zavalla, Argentina.

³ Red List Authority Coordinator for the Temperate South American Plant Specialist Groups -International Union for Conservation of Nature (IUCN).

*jorgelina.asmus@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El género *Celtis* L. (Celtidaceae) posee unos 70 taxones distribuidos en regiones templadas y tropicales de ambos hemisferios (Sattarian, 2006). Comprende árboles o arbustos generalmente espinosos, muchas veces apoyantes, monoicos o polígamo-monoicos. Tienen hojas alternas, simples, típicamente trinervadas, con margen entero, dentado o aserrado, y frecuentemente con domacios entre las nervaduras principales del envés de la lámina; inflorescencias en cimas paucifloras breves, con flores estaminadas en la base y perfectas en el ápice. Las flores son de color verdoso-amarillentas, y tanto las masculinas como las hermafroditas poseen cinco estambres opositépalos. El gineceo de las flores masculinas resulta abortivo y el estilo de las flores perfectas sésil o brevistilado (Dottori & Hunziker, 1994). El fruto consiste en una drupa elipsoide, con pireno calcificado, de superficie rugosa, uniseminado (Sattarian, 2006; Novara, 2009). Según Zuloaga *et al.* (2008) y en el sitio web de la ‘Flora del Cono Sur’ (www.darwin.edu.ar), en Argentina crecen cuatro especies del género: *C. brasiliensis* (Gardner) Planch., *C. chichape* (Wedd.) Miq., *C. ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm. y *C. iguanaea* (Jacq.) Sarg., todas pertenecientes al subgénero *Mertensia* Planch. Este subgénero presenta varios problemas taxonómicos no resueltos y los criterios utilizados por los botánicos para diferenciar las especies han cambiado notoriamente a lo largo de los años (Miquel, 1853; Baehni, 1937; Hunziker & Dottori, 1976; Romanczuk & del Pero de Martínez, 1978 y Dottori & Hunziker, 1994).

Uno de los casos más emblemáticos es el de *C. ehrenbergiana* que según Berg & Dahlberg (2001) es un taxón muy amplio y engloba a *C. tala* Gillies ex Planch. y a *C. pallida* Torr. var. *pallida*. Sin embargo, según Novara (2009) –quien siguió los criterios de Romanczuk & del Pero de Martínez (1978) y Dottori & Hunziker (1994)- estos dos taxones son claramente diferenciables, teniendo en cuenta las siguientes características: *C. tala* es un árbol de 8-10 m de altura, con espinas geminadas, rectas, áfilas y *C. pallida* es un arbusto de 1-3 m de altura, con espinas caulinares con 1-3 nudos y foliosas (ver Fig. 1 A y B).

Con respecto a *C. tala*, esta especie se distribuye por el norte y centro de Argentina, sur de Brasil y Uruguay (Dottori & Hunziker, 1994; Brussa & Grela, 2007). Por otra parte, *C. pallida* tiene dos

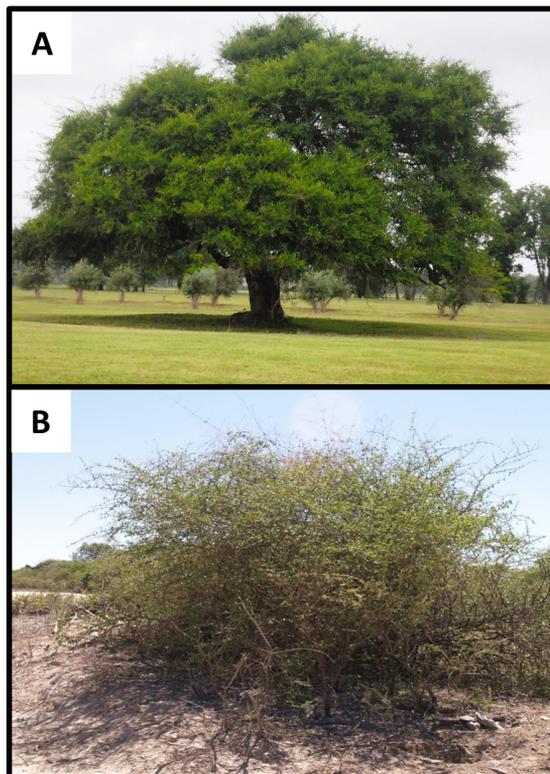


Fig. 1. Aspecto de un ejemplar adulto de A: *C. tala* y B: *C. pallida*.

variedades: por un lado la variedad *pallida*, con área de distribución disyunta, habita en los distritos áridos del sur de EEUU y México, y en Sudamérica en el Chaco de Argentina y Paraguay (Dottori & Hunziker, 1994; Novara, 2009); y la otra, *C. pallida* var. *discolor* Hunz. & Dottori, restringida al oeste del ‘Chaco semiárido’ de Argentina y Paraguay. Esta variedad, conocida como “tala negro”, “tala pispito” o “tala pispito”, había sido considerada en la sinonimia de *C. chichape* por Berg & Dahlberg (2001), hecho que fue refutado por Oakley & Prado (2013), a partir de un análisis exhaustivo de los ejemplares tipos.

Asimismo, Henrickson (2010) también planteó dudas sobre los criterios taxonómicos de Berg & Dahlberg (2001); basándose en los criterios de Hunziker & Dottori (1976), postuló que *C. tala* y *C. pallida* son dos entidades diferentes y sugiere la realización de estudios moleculares para dilucidar la afinidad entre ambos taxones, destacando la importancia y necesidad de la

realización de más trabajos de campo. Con respecto a *C. ehrenbergiana*, Henrickson (2010) afirma, a partir de observaciones sobre los tipos, que este taxón es sinónimo de *C. iguanaea*.

Para esclarecer la circunscripción taxonómica de estas entidades, se realizó una detallada revisión sistemática y morfológica y viajes de campo extensos con el fin de reconocer los taxones estudiados en su hábitat y buscar potenciales ejemplares intermedios. En base a los resultados obtenidos se propone la rehabilitación de los taxones *C. tala* y *C. pallida* -con sus variedades-, y la generación de una clave eficiente para su adecuada determinación, así como el tratamiento taxonómico correspondiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un extenso viaje de campaña durante los meses de noviembre-diciembre de 2014, el cual abarcó la región centro y noroeste del país, recorriéndose ocho provincias argentinas, de modo de cubrir al máximo posible el área de distribución de ambos taxones. Durante el mismo se colectaron 20 especímenes pre-identificados (*sensu* Dottori & Hunziker, 1994) como *C. tala* y 28 como *C. pallida* (ver Material Suplementario-1). Se consultó además material preservado en los herbarios CORD, CTES, FCQ, LIL, LP, MCNS, P, SI y UNR, así como fotografías de la base de datos JStor Global Plants (<http://plants.jstor.org/>) para evaluar ejemplares tipo (ver Material Suplementario-2).

Para el análisis morfológico se analizaron 46 caracteres (ver Material Suplementario-Tabla 1) sobre los especímenes colectados, utilizando calibre digital (Wembley, 0-150 mm), el programa para morfometría tpsDig2 (Rohlf, 2013), y lupa estereoscópica. Previo al análisis estadístico, se transformaron aquellas variables categóricas con n categorías, en n-1 variables binarias (con valor 0 ó 1, “variables auxiliares o variables dummy”) (ver Material Suplementario-Tabla 1). Luego, todos los datos de la matriz fueron estandarizados de manera tal de poner en un pie de igualdad a aquellos valores expresados en diferentes unidades (mm, cm, m, frecuencias) para que puedan ser comparables entre sí. Los datos acondicionados se analizaron con Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008) y PAST (Hammer *et al.*, 2001); se realizaron Análisis de Componentes Principales (ACP),

Tabla 1. Variables (y estados) más fuertemente correlacionadas con la CP1 y CP2 en el ACP teniendo en cuenta 42 variables vegetativas, altura y diámetro de los individuos.

Variabes (y estados)	CP 1	CP 2
Tipo de Domacio (Bolsillos pocos pelos)	0.93	-
Pilosidad Pecíolo-Haz (Muy piloso)	-0.93	-
Pilosidad Lámina-Haz (Casi glabro)	0.92	-
Textura Corteza (Rugosa)	0.92	-
Textura Corteza (Lisa)	-0.92	-
Tipo de espinas (Ramas espinosas)	-0.92	-
Pilosidad Nervadura Haz (Casi glabro)	0.91	-
Pilosidad Nervadura Envés (Casi glabro)	0.88	-
Pilosidad Lámina Envés (Casi glabro)	0.87	-
Pilosidad Pecíolo. Envés (Muy piloso)	-0.85	-
Tamaño Domacios Tercio Medio (Ausentes)	-0.85	-
Pilosidad Ramas jóvenes (Muy pilosa)	-0.84	-
Tamaño Domacios Tercio Medio (Pequeños)	0.83	-
Pilosidad Nervadura Haz (Moderadamente piloso)	-0.83	-
Forma Ápice Hoja (Agudo)	0.82	-
Altura Individuo	0.81	-
N° total de Domacios	0.79	-
Pilosidad Lámina-Haz (Moderadamente piloso)	-0.79	-
Pilosidad Pec. Envés_4 (Piloso)	-	0.72
Pilosidad Envés Lam_3 (Escasamente piloso)	-	0.71
D. Tipo_2 (Bolsillos con muchos pelos)	-	0.66
Pilosidad Envés Nerv_3 (Escasamente piloso)	-	0.63
Pilosidad Envés Nerv_4 (Moderadamente piloso)	-	0.61
Simetría Hoja_2 (Simétrico)	-	0.57
Simetría Hoja_1 (Asimétrico)	-	-0.57

de Conglomerados (AC), Análisis de Varianza Multivariado con Permutaciones (PERMANOVA) y Análisis de Similitud (ANOSIM), para caracterizar y evaluar diferencias morfológicas entre los grupos de ejemplares colectados. Por último, se usó el programa R (R Core Team, 2015), paquete

estadístico FactoMineR (Lê *et al.*, 2008), para realizar la descripción de los clusters formados mediante Análisis de la Varianza Univariado. En base a ello se construyó una clave dicotómica útil para la diferenciación de los taxones.

RESULTADOS

El Análisis de Componentes Principales de las variables vegetativas, altura y diámetro de los individuos retuvo 21 componentes, siendo las dos primeras las que explican el 40,6% de la variabilidad total estudiada (CP1: 31,4%/CP2: 9,2%, ver Fig. 2A). En el Biplot resultante se observa que los ejemplares analizados se ordenan formando tres grupos claramente separados entre sí: uno de ellos agrupa individuos pre-identificados como *C. tala* (señalado en color azul), y los dos restantes a individuos pre-identificados como *C. pallida* (señalados en color rojo y verde) (ver Fig. 2A). Las variables y estados más fuertemente correlacionados, positivamente, a la CP1 son: tipo de domacios (bolsillos con pocos pelos), pilosidad del haz y envés de las hojas (casi glabro), tipo de corteza (rugosa), tamaño de domacios del tercio medio (pequeños), forma del ápice de la hoja (agudo), altura y número total de domacios/hoja. Mientras que las variables y estados correlacionados, negativamente, con la CP1 son: pilosidad del pecíolo (muy piloso), tipo de corteza (lisa), tipo de espinas (ramas espinosas), tamaño de domacios del tercio medio (ausentes), pilosidad de ramas jóvenes (muy pilosas), y pilosidad del haz de las hojas (moderadamente piloso). Por otro lado, las variables y estados positivamente correlacionados con la CP2 son aquellas relacionadas a la pilosidad de la lámina (haz y envés), pecíolo, domacios y simetría de la hoja (ver Tabla 1).

A partir del dendrograma resultante del AC, se visualiza un agrupamiento similar al obtenido en el ACP. Los tres grupos se forman al nivel de corte de 1,5 utilizando la distancia de Gower (ver Fig. 2B). Tanto en el ACP como en el AC, los individuos se ordenan y agrupan en tres conjuntos coincidentes con la identificación previa. Las variables reproductivas que fueron analizadas en este trabajo (ver Material Suplementario-Tabla 1) no fueron consideradas en estos análisis ya que, en la mayoría de los casos, los individuos con frutos se encontraban inmaduros y por lo tanto su desarrollo incompleto.

Para evaluar la significancia de la separación entre los tres grupos se realizaron los análisis de PERMANOVA y ANOSIM. Los resultados obtenidos (ver Tabla 2) demuestran la existencia de diferencias significativas (p -valor $< 0,05$) entre los tres conjuntos, con un p -valor corregido por Bonferroni de 0,0003. Los estadísticos F y R asociados a cada análisis, confirman las diferencias y disimilitudes observadas. En este sentido, cabe destacar que los R-valores obtenidos en el ANOSIM son superiores a 0,5, y se acercan más a 1 en el caso de *C. tala* y *C. pallida* (grupo verde), indicando particularmente una elevada disimilitud entre dichos taxones.

Las variables y estados que se encuentran más ligados a cada grupo, y que permiten diferenciar a las entidades definidas en el análisis anterior son (Material Suplementario- Tabla 2), para el grupo azul (pre-identificados como *C. tala*): corteza rugosa; tipo de domacio (bolsillo con pocos pelos); altura y diámetro de los individuos mayor que en los demás grupos, longitud y ancho de la hoja y pecíolo con valores superiores a la de los otros grupos detectados; ausencia casi total de pilosidad del haz y envés de la lámina y nervaduras; gran cantidad de domacios principalmente en el sector inferior y medio de la lámina, siendo los primeros grandes y los últimos pequeños; morfología de la hoja ovado-lanceolada y el ápice agudo; contraste entre la lámina y las nervaduras destacado y lámina concolor; presencia de espinas de origen estipular, aunque con menor frecuencia se presentan individuos con espinas tanto de origen estipular como ramas espinosas; y presencia de pocas lenticelas en ramas adultas (Fig. 3). En el grupo rojo (pre identificados como *C. pallida*) se destacan: pilosidad del envés de la lámina (escasamente piloso), y pilosidad del envés del pecíolo (piloso); las nervaduras resultan ser escasamente a moderadamente pilosas, aunque escasamente pilosas en el haz; ramas adultas pilosas y las jóvenes muy pilosas; corteza lisa; domacios de tipo bolsillo con muchos pelos; presencia de ramas espinosas en todos los casos observados; y hoja concolora, con nervaduras no contrastantes con la lámina. Finalmente, en el grupo verde (pre identificados como *C. pallida*) los caracteres más representativos son: abundante pilosidad del pecíolo tanto en haz como envés, así como pilosidad moderada de la lámina y nervaduras en el haz y en el envés densamente

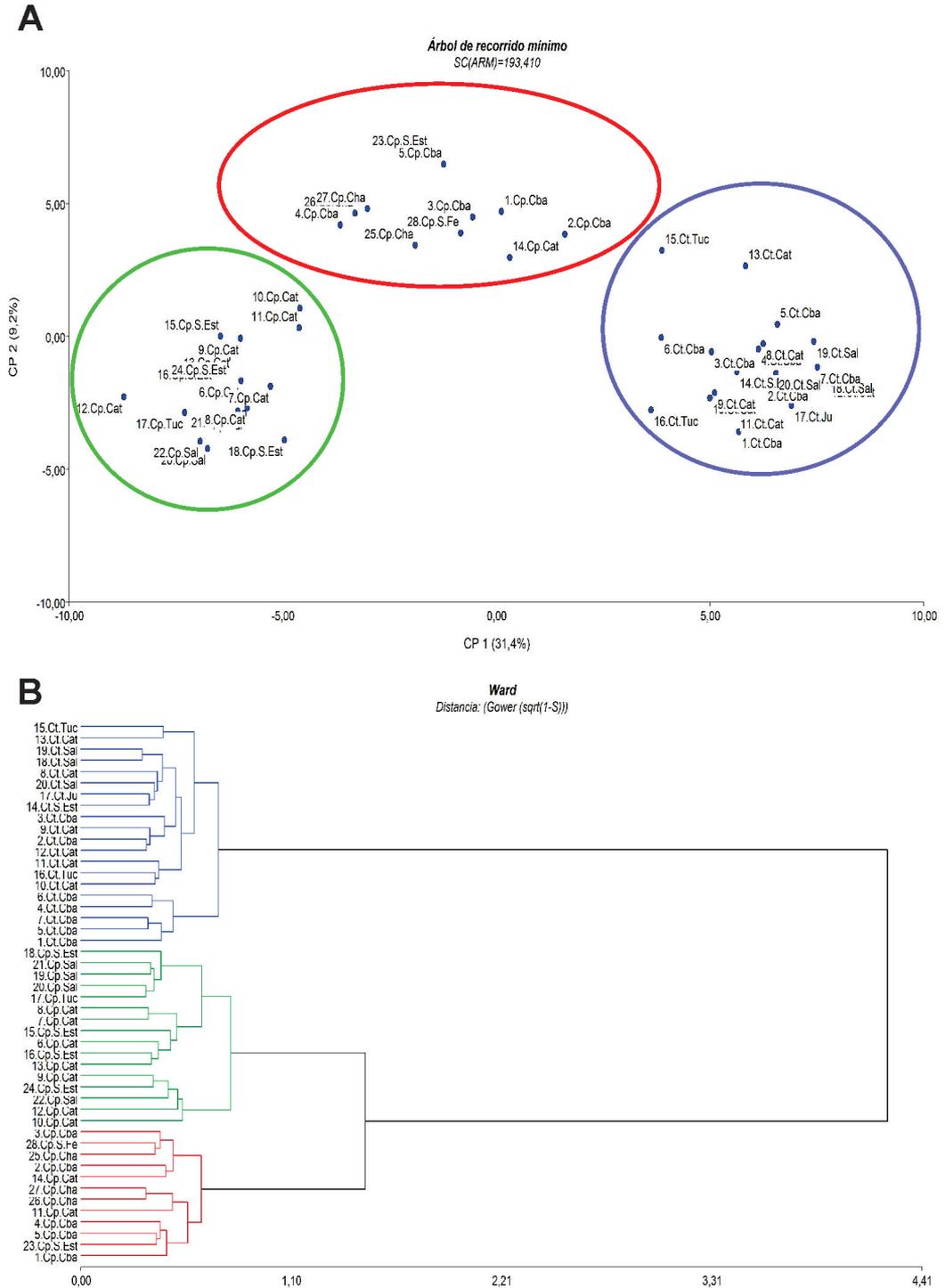


Fig. 2. Resultado del ACP y AC de 42 variables vegetativas, altura y diámetro sobre 48 individuos. **A:** Proyección de los individuos estudiados en relación a las componentes principales 1 y 2, Ct: *C. tala*; Cp: *C. pallida*, según la identificación previa de los especímenes. **B:** Agrupamiento jerárquico (criterio de Ward). El eje lateral corresponde a la distancia de Gower. Los colores representan la partición en tres grupos a un nivel de corte de 1,5.

Tabla 2. Resultados del ANOSIM (R-valores) y PERMANOVA (F-valores). Los p-valores (corregidos por Bonferroni) = 0,0003, para todas las comparaciones, en ambos análisis.

F-valor	P-valor		
	<i>C. pallida</i>	<i>C. tala</i>	<i>C. pallida</i>
<i>C. pallida</i>	-	0.898	0.558
<i>C. tala</i>	12.39	-	0.969
<i>C. pallida</i>	6.347	21.17	-

pilosas; domacios frecuentemente ausentes o muy pequeños; lámina discolor; forma de la hoja principalmente ovada con ápice obtuso y margen muchas veces semi-crenado; la presencia de ramas espinosas de origen caulinar, corteza lisa, ramas jóvenes muy pilosas; ausencia de contraste entre lámina y nervaduras y abundante presencia de lenticelas en las ramas.

Clave para diferenciar a los taxones de *Celtis* tratados en el presente trabajo

1. Árboles, con corteza rugosa. Espinas geminadas de origen estipular. Hojas ovado-lanceoladas con ápice agudo. Nervaduras de color más claro que el resto de la lámina. Haz y envés de la lámina y nervaduras casi glabros. Hojas concoloras. Domacios (2-20) del tipo bolsillo con pocos pelos, los basales de mayor tamaño que los demás. *C. tala*
- 1'. Arbustos, con corteza lisa. Ramas espinosas foliosas. Hojas ovadas con ápice obtuso, en menor medida emarginado o mucronado. Nervaduras de color similar al resto de la lámina. Hojas concoloras o discoloras. Domacios (0-7) del tipo bolsillo con muchos pelos. 2
2. Hojas concoloras. Haz y envés de la lámina escasamente piloso, con nervaduras y pecíolo moderadamente pilosos. Domacios (1-7) del tipo bolsillos con muchos pelos, los basales de mayor tamaño que el resto. *C. pallida* var. *pallida*
- 2'. Hojas discoloras. Envés blanquecino por la densa pilosidad. Haz de la lámina y nervaduras moderadamente pilosos y envés densamente piloso a muy piloso. Domacios ausentes o 2 basales del tipo bolsillos con muchos pelos. *C. pallida* var. *discolor*

Tratamiento taxonómico

Celtis pallida Torr. var. *pallida*, en Emory, *Rep. U.S. Mex. bound.* 2: 203, pl. 50, 1859. *Celtis tala* Gillies ex Planch. var. *pallida* (Torr.) Planch., en D.C., *Prodr.* 17: 191, 1873. *Celtis spinosa* Spreng. var. *pallida* (Torr.) M.C. Johnst., *Southw. Naturalist* 2 (4): 172, 1957. Tipo: USA, Texas, Rio Grande, 1851-1852, Wright 1858 (Lectotipo: NY).

= *Celtis tala* Gillies ex Planch. var. *chichape* (Weed.) Planch. f. *subpilosa* Kuntze, *Rev. Gen. Pl.* 3 (3): 294. 1898. Tipo: Argentina, Santiago del Estero, Pinto, X-1892, Kuntze s.n. (Holotipo: NY, Isotipo: NY).

= *Celtis weddelliana* (Planch.) Romanczuk, *Hickenia* 1(2): 7. 1976. Tipo: Argentina, Corrientes, II-1832, Bonpland 1211 (Lectotipo, P).

Arbustos de hasta de 5 m de altura, de corteza lisa. Ramas espinosas foliosas. Hojas concoloras, de 12-32 mm long. × 5-20 mm lat., láminas ovadas con ápice obtuso, en menor medida emarginado o mucronado. Nervaduras de color similar al resto de la lámina. Haz y envés de la lámina escasamente piloso, con nervaduras y pecíolo moderadamente pilosos. Domacios (1-7) del tipo bolsillos con muchos pelos, los basales de mayor tamaño que el resto. Frutos con pirenos de 3,5-4,0 mm long., levemente alveolados a casi lisos. (Fig. 4 y 5).

Celtis pallida Torr. var. *discolor* Hunz. & Dottori, *Kurtziana* 9: 130, 1976. *Celtis ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm. var. *discolor* (Hunz. & Dottori) Oakley & D. Prado, *Rojasiana* 12 (1-2): 127, 2013. Tipo: Argentina, Prov. Catamarca, Dpto. Capayán, Sierra de Ambato, Quebrada de San Jerónimo, 5 km NW de Chumbicha, 19/II/1975, Hunziker *et al.* 22774 (Holotipo: CORD, Isotipo: MA).

= *Celtis tala* Gillies ex Planch. var. *gilliesiana* Planchon f. *velutina* Herzog, *Meded. Rijks-Herb.* 27: 72, 1915. Tipo: Bolivia, Tarija, Pilcomayo, X/1910, Herzog 1096 (Lectotipo: G).

= *Celtis sericea* Romanczuck, *Hickenia* 1 (2): 5, 1976. *Celtis pallida* Torr. subsp. *sericea* (Romanczuck) Romanczuck, *Darwiniana* 21: 562, 1978. Tipo: Argentina, Prov. Jujuy, Dpto. San Pedro, San Lucas, 23/I/1976, Cabrera *et al.* 27532 (Holotipo: SI, Isotipo: P).

Difiere de la var. *pallida* por poseer hojas discoloras, con envés blanquecino por la densa

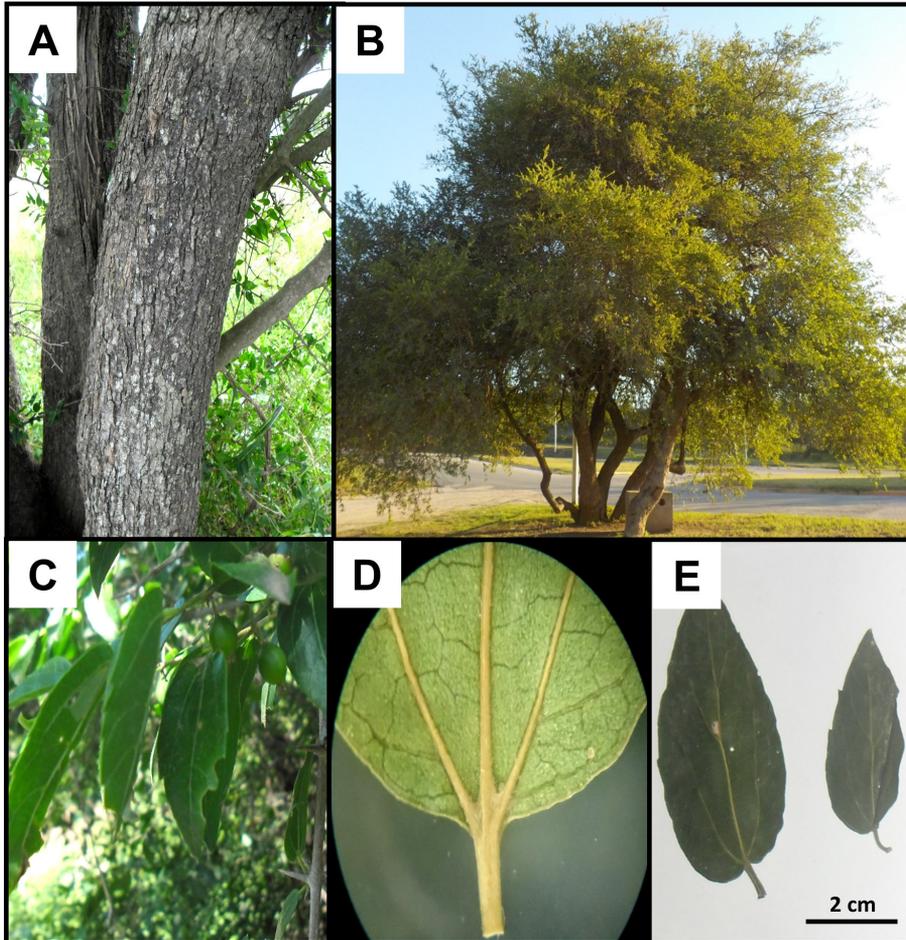


Fig. 3. *C. tala*. **A:** Rugosidad de la corteza. **B:** Aspecto de los individuos, de porte arbóreo. **C:** hojas, frutos inmaduros y espinas geminadas. **D:** Envés de la lámina casi glabro, contraste de color entre envés de la lámina y nervaduras, domacios basales. **E:** Hojas de morfología generalmente ovada-lanceolada.

pilosidad. Haz de la lámina y nervaduras moderadamente pilosas. Domacios ausentes o dos basales pequeños, del tipo bolsillos con muchos pelos. (Fig. 4 y 5).

Celtis tala Gillies ex Planch., *Ann. Sci. Nat. Bot. Sér.* 3, 10: 310, 1848. *Celtis tala* Gillies ex Planch. var. *gilliesiana* Planch., en D.C., *Prodr.* 17: 191, 1873. Tipo: Argentina, San Luis, Gillies s.n. (Lectotipo, K).

= *Momisia integrifolia* Wedd. *Ann. Sci. Nat. Bot. Sér.* 3, 18: 196, 1852. *Celtis tala* Gillies ex Planch. var. *weddelliana* Planch., en D.C., *Prodr.* 17: 191, 1873. *Celtis spinosa* Spreng. var. *weddelliana*

(Planch.) Baehni, *Candollea* 7: 204, 1936. Tipo: Brasil, Río Grande do Sul, Gaudichaud 1734 (Lectotipo, P).

= *Celtis spinosa sensu* Baehni *non* Spreng.

Árboles de 3-12 (20) m de altura, de corteza rugosa. Espinas geminadas de origen estipular, rectas. Hojas concoloras de 25-50 mm long. × 10-25 mm lat., ovado-lanceoladas con ápice agudo. Haz y envés de la lámina y nervaduras casi glabros. Domacios (2-20) del tipo bolsillo con pocos pelos, los basales de mayor tamaño que los demás. Frutos con pirenos rugosos, de 4-6 mm long. x 3-4 mm lat. (Fig. 3).

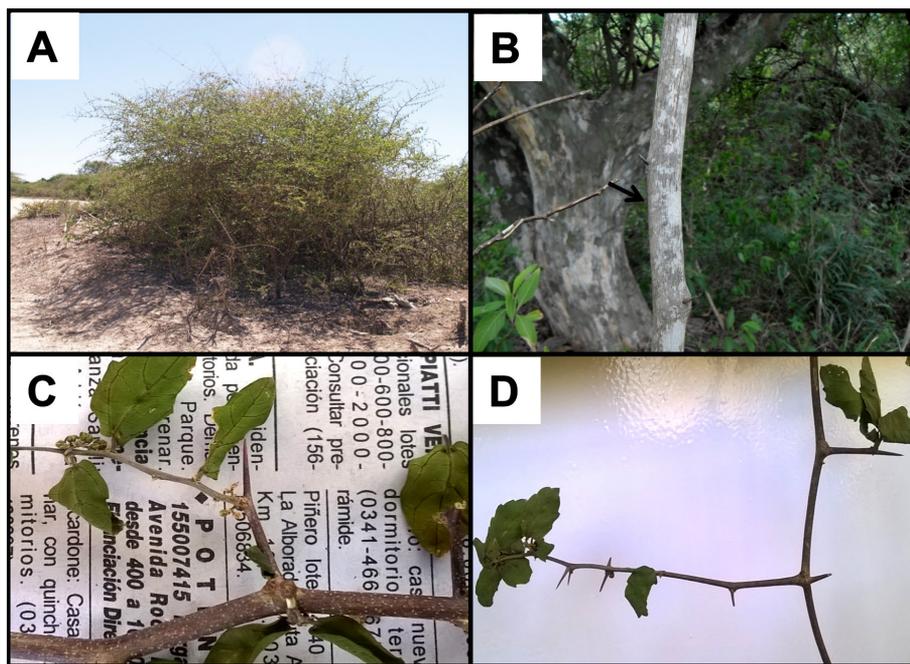


Fig. 4. *C. pallida*. **A:** Porte arbustivo de los individuos. **B:** Aspecto liso de la corteza. **C- D:** hojas, ramas con abundantes lenticelas y ramas espinosas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En función de los resultados expuestos anteriormente, los antecedentes bibliográficos sobre los taxones estudiados en este trabajo, sumado a los extensos recorridos de campo y la larga experiencia de campo de varios de los autores, consideramos que los tres grupos que se distinguen en los análisis corresponden a: *C. pallida* var. *pallida* (grupo rojo); *C. tala* (grupo azul); y *C. pallida* var. *discolor* (grupo verde).

Con respecto a *C. tala*, nuestros resultados concuerdan con Hunziker & Dottori (1976), Romanczuk & del Pero de Martínez (1978) y Dottori & Hunziker (1994), quienes otorgaron un rol central al aspecto, dimensiones y número de espinas, dimensiones de las hojas, cantidad y tamaño de domacios, dimensiones y aspecto de los pirenos y porte arbóreo de los individuos. Coincidentemente, en las claves dicotómicas elaboradas para la determinación de esta especie, aquellos autores mencionados consideran la morfología, ápice y margen de las hojas como caracteres diferenciales. Según el análisis realizado en el presente trabajo, predomina

entre los especímenes colectados una morfología foliar ovada-lanceolada con ápice agudo para *C. tala*; sin embargo, también se observó una amplia variabilidad en esos caracteres entre los diferentes ejemplares de este taxón y entre las diferentes especies del género. La pilosidad foliar suele ser considerada un carácter muy variable y poco confiable para determinar especímenes; no obstante, en este estudio se detectó una uniforme escasez de pilosidad en lámina, nervaduras y pecíolo para todos los ejemplares de *C. tala*. Los pirenos no fueron considerados como relevantes en este estudio ya que los frutos de los especímenes recolectados se encontraban frecuentemente inmaduros. A pesar de ello, se observó que las dimensiones de los frutos y pirenos para *C. tala* son de mayor tamaño que para los otros taxones bajo estudio, hecho que también es destacado en la bibliografía (Hunziker & Dottori, 1976; Dottori & Hunziker, 1994; Novara, 2009).

Con relación a *C. pallida*, los caracteres diferenciales aquí destacados como críticos son similares a los que reconocen los autores que han trabajado en el grupo con anterioridad. Es así que Hunziker & Dottori (1976) y Dottori & Hunziker

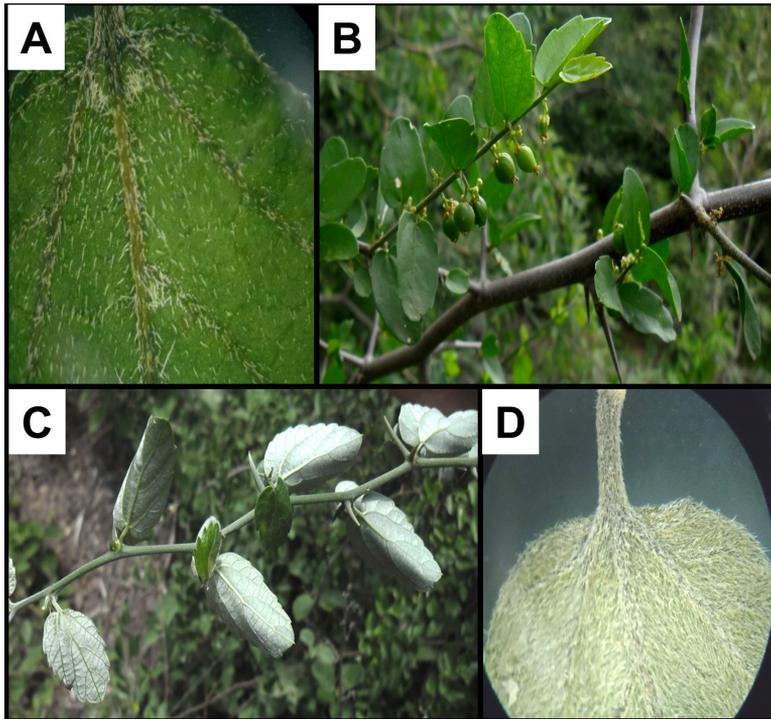


Fig. 5. *C. pallida* var. *pallida*: **A:** Pilosidad del envés de la lámina casi glabro con nervaduras moderadamente pilosas y domacios del tipo bolsillo con muchos pelos. **B:** hojas, frutos inmaduros y ramas espinosas. *C. pallida* var. *discolor*: **C:** hojas, con envés blanquecino. **D:** Detalle de la pilosidad en el envés de la lámina, peciolo y nervaduras densamente piloso, y domacios imperceptibles.

(1994) consideran al porte arbustivo, la presencia de espinas foliosas y las dimensiones y aspecto de los pirenos como caracteres primordiales para diferenciarlo de *C. tala*. Cabe aclarar que Romanczuk & del Pero de Martínez (1978) identificaron los mismos caracteres pero hacen referencia a espinas con nudos visibles y desarrollo de braquiblastos foliados, en vez de espinas foliosas. Posteriormente, Novara (2009) menciona los mismos caracteres y además suma la forma y margen de las hojas. Con respecto a las espinas foliosas o con nudos visibles que se mencionan ampliamente en la bibliografía, consideramos que son en realidad espinas de origen caulinar, es decir, ramas espinosas. A diferencia de *C. tala*, en *C. pallida* las ramas espinosas están siempre presentes, siendo una característica típica de la especie.

Por otra parte, se observa que los individuos pre-identificados como *C. pallida* se dividen en dos grupos. A partir de ello, y coincidentemente con

Hunziker & Dottori (1976), consideramos que se trata efectivamente de las variedades *C. pallida* var. *pallida* y *C. pallida* var. *discolor*. Los abundantes caracteres similares entre ambas entidades, hace presumir efectivamente su parentesco. Por ejemplo, y para citar algunos: el aspecto liso de la corteza, abundancia de lenticelas, presencia de ramas espinosas invariablemente y las dimensiones y el hábito de los individuos (porte arbustivo). Los caracteres que diferencian a ambas entidades son los mismos que postularon distintos autores (Hunziker & Dottori, 1976; Dottori & Hunziker, 1994; Romanczuk & del Pero de Martínez, 1978; Novara, 2009). Así, se observa que *C. pallida* var. *discolor* presenta una densa pilosidad en todo el cuerpo de la planta; particularmente en las hojas, las que se observan discolores debido a la presencia de una densa pilosidad en el envés de la misma. Por otra parte, los domacios en *C. pallida* var. *pallida* presentan una abundancia relativa, pero en menor cantidad que en *C. tala* y

son del tipo bolsillo con muchos pelos, mientras que en *C. pallida* var. *discolor* en la mayoría de los individuos se presentan de a pares en la base, ocultos por la tupida pilosidad de la lámina o a veces ausentes. La morfología foliar en ambas variedades es muy variable; sin embargo, en *C. pallida* var. *discolor* hay una cierta predominancia de hojas ovadas, con ápice obtuso y margen medio y superior de la lámina semicrenado.

Si bien existen controversias en cuanto a la categoría que se corresponde con las entidades infraespecíficas de *C. pallida* (Romanczuk & del Pero de Martínez, 1978, las consideraban subespecies), en este trabajo concordamos con el criterio de Hunziker & Dottori (1976) y Dottori & Hunziker (1994) y se reconocen dos variedades, ya que ambas poseen áreas de convivencia y existe en sus caracteres una variación continua.

Además, se encontraron algunos especímenes intermedios entre las agrupaciones correspondientes a *C. pallida* var. *pallida* y *C. pallida* var. *discolor*, es decir con caracteres compartidos. Estos individuos, pertenecientes en su mayoría a la provincia de

Catamarca, fueron colectados en la región de Chaco Serrano y Transición de éste a Selva Pedemontana, donde las poblaciones de ambas variedades están en contacto. En consecuencia, la variabilidad morfológica intermedia observada podría estar reflejando la heterogeneidad ambiental propia de dichos sectores de contacto entre regiones y taxones y/o sugiriendo la existencia de interfertilidad (híbridos) entre ambas variedades. No obstante, sería necesario realizar estudios de tipo molecular y cubrir el rango de distribución de los taxones al máximo posible (*C. pallida* var. *discolor* se encuentra también en Bolivia y Paraguay), para llegar a conclusiones más certeras.

En términos taxonómicos, las tres entidades detectadas son consideradas actualmente como *C. ehrenbergiana*, a partir de la revisión de Berg & Dahlberg (2001). Sin embargo, según Oakley & Prado (2013), se hacen aquí las siguientes críticas a dicha revisión: 1- se utilizaron caracteres bastante variables para diferenciar las entidades, como por ejemplo la pilosidad de la lámina, mientras que caracteres de mayor relevancia

Tabla 3. Diferencias morfológicas entre los taxones de *Celtis* estudiados.

Caracteres morfológicosdiferenciales	Taxones		
	<i>Celtis tala</i>	<i>Celtis pallida</i> var. <i>pallida</i>	<i>Celtis pallida</i> var. <i>discolor</i>
Hábito de crecimiento	Árbol	Arbusto	Arbusto
Tipo de Corteza	Rugosa	Lisa	Lisa
Tipo de Espinas	Espinas geminadas de origen estipular	Ramas espinosas foliosas	Ramas espinosas foliosas
Forma de Hojas	Ovado-lanceoladas con ápice agudo	Ovadas con ápice obtuso, en menor medida emarginado o mucronado	Ovadas con ápice obtuso, en menor medida emarginado o mucronado
Color nervaduras con respecto a la lámina	Nervaduras de color más claro que el resto de la lámina	Nervaduras de color similar al resto de la lámina	Nervaduras de color similar al resto de la lámina
Pilosidad de la Hoja	Haz y envés de la lámina y nervaduras casi glabros	Haz y envés de la lámina escasamente piloso, con nervaduras y peciolo moderadamente pilosos	Haz de la lámina y nervaduras moderadamente pilosos y envés densamente piloso a muy piloso
Contraste de la lámina (haz-envés)	Hojas concoloras	Hojas concoloras	Hojas discoloras. Envés blanquecino por la densa pilosidad
N° de Domacios	2-20	1-7	0-2
Tipo de Domacios	Bolsillo con pocos pelos. Los basales de mayor tamaño que los demás	Bolsillo con muchos pelos. Los basales de mayor tamaño que el resto	Bolsillo con muchos pelos. Sólo basales o ausentes

no fueron considerados (v.g. tipos de espinas, hábito); 2- no queda claro si todo el análisis fue hecho exclusivamente con material de herbario, o si se hizo trabajo de campo complementario, ni tampoco si fueron examinados en detalle todos los ejemplares tipo; y 3- tampoco se aclaran suficientemente los criterios utilizados para establecer sinonimias, cuando se tratan los taxones individualmente.

Otro autor que cuestiona a Berg & Dahlberg (2001) es Henrickson (2010), quien realizó un estudio detallado del ejemplar tipo de *C. ehrenbergiana* y lo comparó con ejemplares mexicanos, con caracteres similares, determinados como *C. iguanaea*. Así, el carácter más representativo que relaciona a *C. ehrenbergiana* con *C. iguanaea* es la presencia de espinas solitarias y curvas, carácter típico de la segunda especie. A partir de esta conclusión, Henrickson (2010) postuló que *C. ehrenbergiana* debería considerarse un sinónimo de *C. iguanaea*.

En suma, en el presente trabajo se propone que *C. tala* y *C. pallida* son dos entidades completamente diferentes. Entre los caracteres de importancia taxonómica se pueden mencionar: porte de los individuos, textura de corteza, pilosidad de láminas, nervaduras y pecíolos, espinas estipulares/ramas espinosas, abundancia y aspecto de domacios (ver Tabla 3).

Además, surge claramente que para la flora del cono sur sudamericano, el binomio *C. ehrenbergiana* es un nombre que da lugar a dudas. Es decir, cuando se cita a esta entidad taxonómica en algún trabajo científico (v.g. Nughes *et al.* 2013), no se puede establecer en forma directa si los autores trabajaron en realidad sobre *C. tala* o sobre *C. pallida*, pues podría tratarse de cualquiera de ambas, a pesar de ser éstas radicalmente diferentes. Entonces, se propone aquí no usar el nombre *C. ehrenbergiana* hasta tanto se resuelva su verdadera posición taxonómica (por ejemplo, en el sitio web Flora del Cono Sur, disponible en www.darwin.edu.ar) y rehabilitar los tradicionales nombres *C. tala* y *C. pallida*.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. A los herbarios CORD, CTES, FCQ, LIL, LP, MCNS, P, SI y UNR, por la autorización para examinar

ejemplares. A Eugenia Pedrero, Ángeles Tessore, Roberto Salinas y Exequiel Agüero, por su ayuda en las colectas. Este trabajo fue parcialmente financiado por la Universidad Nacional de Rosario (Proyecto AGR-200). Los autores J.A., D.C., y D.P. agradecen al CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas).

BIBLIOGRAFÍA

- BAEHNI, C. 1937. Les Celtis Sudamericains. *Candollea* 7: 189-214.
- BERG, C.C. & S.V. DAHLBERG. 2001. A Revision of *Celtis* subg. *Mertensia* (Ulmaceae). *Brittonia* 53: 66-81.
- BRUSSA, C.A. & I.A. GRELA. 2007. *Flora Arbórea del Uruguay. Con énfasis en las especies de Rivera y Tacuarembó*. COFUSA. Montevideo, Uruguay.
- DI RIENZO, J.A., F. CASANOVES, M.G. BALZARINI, L. GONZÁLEZ, M. TABLADA & C.W. ROBLEDO. 2008. *InfoStat, versión 2008*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DOTTORI, N. & A. HUNZIKER. 1994. Celtidaceae. *Flora Fanerogámica Argentina* 2: 5-11.
- HAMMER, Ø., D. HARPER & P.D. RYAN. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4: 9.
- HENRICKSON, J. 2010. Comments on a revision of *Celtis* subgenus *Mertensia* (Celtidaceae) and the recognition of *Celtis pallida*. *J. Bot. Res. Inst. Texas* 4: 287-293.
- HUNZIKER, A. & N. DOTTORI. 1976. Contribución al conocimiento sobre los talas (*Celtis*, Ulmaceae) de Argentina, con especial referencia a la región mediterránea I. Sobre una especie Austrosudamericana y sobre otra de área disyunta. *Kurtziana* 9: 103-140.
- LÊ, S., J. JOSSE & F. HUSSON. 2008. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *J. Stat. Softw.* 25: 1-18.
- MIQUEL, F.A.W. 1853. Urticineae: *Celtis*. In: C.F.P. VON MARTIUS (ed.) *Flora Brasiliensis* 4: 174-182. P. Oldenburg, Leipzig.
- NOVARA, L. 2009. Flora del Valle de Lerma (Salta, Argentina): Celtidaceae. *Aportes botánicos de Salta-Ser. Flora* 9: 1-20.
- NUGHES, L., M. COLARES, M. HERNÁNDEZ & A. ARAMBARRI. 2013. Morfo-anatomía de las hojas de *Celtis ehrenbergiana* (Celtidaceae) desarrolladas bajo condiciones naturales de sol y sombra. *Bonplandia* 22: 47-58.

- OAKLEY L.J. & D.E. PRADO. 2013. Consideraciones sobre la identidad y delimitación de *Celtis chichape* (Wedd.) Miq. (Celtidaceae). *Rojasiana* 12: 117-124.
- SATTARIAN, A. 2006. *Contribution to the biosystematics of Celtis L. (Celtidaceae) with special emphasis on the African species*. PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen.
- ROMANCZUK, M.C. & M.A. del PERO de MARTÍNEZ. 1978. Las especies del género *Celtis* (Ulmaceae) en la flora argentina. *Darwiniana* 21: 541-577.
- ZULOAGA F.O., O. MORRONE & M.J. BELGRANO (eds.). 2008. Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 107, St. Louis.

Recibido el 8 de octubre de 2017, aceptado el 8 de noviembre de 2018. Editor: Massimiliano Dematteis.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

1- Especímenes colectados

Individuos pre identificados como *Celtis tala*:

ARGENTINA. Prov. Catamarca: Dpto. El Alto: cerca de Infanzón; S-28,58580556 / O-65,43763889; 884 m.s.m; 24/11/2014; “Árbol de 7 m; diámetro 0,31 m; en bosque de cebil, tipo selva pedemontana transición al chaco; suelo pedregoso”. 13-Ct-Cat- Dpto. Fray Mamerto Esquiú: camino a Villa Las Piriquitas; S-28,27197222 / O-65,73669444; 701 m.s.m; 22/11/2014; “Árbol de 6 m; diámetro 0,31 m; en Chaco Serrano; suelo pedregoso/arenoso”. 8-Ct-Cat- San Antonio, Refugio de vida silvestre Merced de Allpatauca; S-28,41880556 / O- 65,69394444; 561 m.s.m; 22/11/2014; “Árbol de 7 m; diámetro 0,21 m; a un costado de campo sembrado; suelo pedregoso/limoso”. 9-Ct-Cat- Dpto. Paclín: cerro San Antonio de Paclín; S-28,01666667 / O-65,69852778; 1106 m.s.m; 23/11/2014; “Árbol de 8 m; diámetro 0,131 m; en transición Chaco Serrano - Selva Pedemontana; suelo limoso/pedregoso”. 10-Ct-Cat- Dpto. Santa Rosa: pie de Cuestas de Alijilán a El Alto; S-28,18869444 / O-65,47230556; 576 m.s.m; 23/11/2014; “Árbol de 9 m; diámetro 0,32 m; en Chaco Serrano, transición a Selva Pedemontana; suelo pedregoso/ con humus en superficie; al costado del camino”. 11-Ct-Cat- Dpto. Valle Viejo: Cuesta del Portezuelo; S- 28,48197222 / O-65,61047222; 1196 m.s.m; 24/11/2014; “Árbol de 12 m; diámetro 0,30 m; en Chaco Serrano; suelo pedregoso/montañoso con grava; al costado de la ruta”. 12-Ct-Cat- Prov. Córdoba: Dpto. Colón: Agua de Oro, calle El Quebracho, Barrio Parque tres Cóndores; S-31,01494444 / O-64,30391667; 832 m.s.m; 20/11/2014; “Árbol de 5 m; diámetro 0,29 m; vegetación secundaria de Chaco Serrano; suelo limoso/pedregoso”. 3-Ct-Cba- Dpto. Río Primero: oeste de Río Primero, Ruta Nac. 19; S-31,3065 / O-63,67477778; 256 m.s.m; 19/11/2014; “Árbol de 9 m; diámetro 0,50 m; en zona antropizada; suelo arenoso/limoso; entre la ruta y vías del ferrocarril, lotes agrícolas lindantes con plantaciones (cortinas) de *Cupressus* sp., nido de *Myiopsitta monachus*”. 2-Ct-Cba- Dpto. Río Segundo: cerca de Villa del Rosario, Ruta 3; S-31,58433333 / O-63,65380556; 235 m.s.m; 19/11/2014; “Árbol de 6 m; diámetro 0,19 m; en sabana; suelo franco/limoso; estrecha franja (paralela a la ruta) de sabana de espinal”. 1-Ct-Cba- Dpto. Sobremonte: camino a Cerro Colorado; S-30,10613889 / O-63,89280556; 506 m.s.m; 20/11/2014; “Árbol de 2,5 m; diámetro 0,15 m; suelo limoso/arenoso”. 6-Ct-Cba- Dpto. Totoral: entre Las Peñas y San José de la Dormida; S-30,54891667 / O- 64,00313889; 487 m.s.m; 20/11/2014; “Árbol de 9 m; diámetro 0,34 m; relictos de bosque xerófilo antropizado, desmontado; suelo limoso/arenoso”. 4-Ct-Cba- Oeste de Las Peñas; S-30,53805556 / O -64,14872222; 667 m.s.m; 20/11/2014; “Árbol de 9,5 m; diámetro 0,42 m; al costado del camino; suelo limoso/arenoso/pedregoso”. 5-Ct-Cba- Dpto. Tulumba: entre Villa Tulumba y Deán Funes, Ruta prov. 16; S-30,42836111 / O-64,2465; 926 m.s.m; 21/11/2014; “Árbol de 6 m; diámetro 0,21 m; en Chaco Serrano; suelo Limoso/pedregoso”. 7-Ct-Cba- Prov. Jujuy: Dpto. El Carmen: Ruta 9, cerca de El Carmen; S-24,40602778 / O- 65,28080556; 1197 m.s.m; 29/11/2014; “Árbol de 13,5 m; diámetro 0,61 m; Ruderal, Vegetación secundaria al lado de la ruta, cerca de cultivo de tabaco; suelo franco/limoso”. 17-Ct-Ju- Prov. Salta: Dpto. Capital: Monolito a Güemes, Cañada (quebrada) de la Horqueta; S-24,86708333 / O-65,21002778; 1150 m.s.m; 30/11/2014; “Árbol de 13 m; diámetro 0,30 m; Selva Pedemontana muy antropizada; suelo pedregoso/limoso; con plantas parásitas, pocas hojas”. 19-Ct-Sal- Camino a Cuchihuman, ruta 34 hacia el este; S-24,89416667 / O-65,00763889; 858 m.s.m; 30/11/2014; “Árbol de 8,7 m; diámetro 0,20 m; en Chaco muy degradado; suelo limoso”. 20-Ct-Sal- Dpto. La Caldera: Cuesta del Gallinato; S-24,67702778 / O- 65,35291667; 1288 m.s.m; 29/11/2014; “Árbol de 9,5 m; diámetro 0,43 m; Presencia de cartel que indica que es transición entre Chaco Serrano y Selva Pedemontana; sitio bastante antropizado”. 18-Ct-Sal- Prov. Santiago del Estero: Dpto. Choya: Villa La Punta, Sierras de Guasayán (parte baja); S-28,37208333 / O-64,80061111; 425 m.s.m; 25/11/2014; “Árbol de 12,3 m; diámetro 0,62 m; en Chaco Serrano; suelo pedregoso con grava/suelto; ejemplar acostado”. 14-Ct-S.Est- Prov. Tucumán: Dpto. Burruyacu: Aguas Blancas; S-26,36952778 / O-64,77847222; 732 m.s.m; 26/11/2014; “Árbol de 14 m; diámetro 0,21 m; en relictos de Selva Pedemontana; suelo pedregoso con humus; se observan otros ejemplares del mismo tamaño en la zona”. 15-Ct-Tuc- Ruta 336, camino a

Burruyacu; S -26,54641667 / O-64,65838889; 433 m.s.m; 27/11/2014; “Árbol de 4 m; diámetro 0,28 m; en zona antropizada, costado de ruta de campo agrícola; suelo franco/limoso”. 16-Ct-Tuc-

Individuos pre identificados como *Celtis pallida*

ARGENTINA. Prov. Catamarca: Dpto El alto: al este de Infanzón; S-28,61794444 / O-65,39652778; 707 m.s.m; 24/11/2014; “Arbusto de 0,70 m de longitud; en bosque de cebilar; suelo limoso calcáreo/pedregoso; se observan en el sitio ejemplares de hasta 2 m, probablemente su presencia se deba a la actividad ganadera del lugar”. 14-Cp-Cat- Dpto. Fray Mamerto Esquiú: camino a Villa Las Pirquitas; S- 28,27536111 / O-65,73322222; 712 m.s.m; 22/11/2014; “Arbusto de 0,80 m de longitud; en Chaco Serrano; suelo pedregoso/arenoso; en sotobosque, debajo de *Acacia praecox* y *Prosopis chilensis*”. 6-Cp-Cat- Camino a Villa las Pirquitas S-28,27422222 / O-65,73352778; 716 m.s.m; 22/11/2014; “Arbusto de 1,5 m de longitud; diámetro de 0,11 m; en Chaco Serrano; suelo arenoso; en ladera, al costado de un camino, ambiente antropizado, planta de sol, adyacente a *Larrea divaricata* y *Ruprechtia apetala*”. 7-Cp-Cat- Camino a Villa Las Pirquitas; S-28,27422222 / O-65,73352778; 716 m.s.m; 22/11/2014; “Arbusto de 2 m de longitud; diámetro de 0,16 m; en Chaco Serrano; suelo arenoso”. 8-Cp-Cat- Camino a Villa Las Pirquitas; S-28,27197222 / O-65,73669444; 701 m.s.m; 22/11/2014; “Arbusto de 0,60 m de longitud; en Chaco Serrano; suelo pedregoso/arenoso”. 9-Cp-Cat- San Antonio, Refugio de Vida Silvestre Merced de Allpatauca; S-28,41941667 / O-65,69011111; 565 m.s.m; 22/11/2014; “Arbusto de 1,9 de longitud; diámetro de 0,035 m; en Chaco Serrano; suelo pedregoso/limoso”. 10-Cp-Cat- Dpto Paclín: Cerro San Antonio de Paclín; S- 28,01666667 / O-65,69852778; 1106 m.s.m; 23/11/2014; “Arbusto de 2 m de longitud; diámetro de 0,05 m; en transición Chaco Serrano-Selva Pedemontana; suelo limoso/pedregoso; hojas pubescentes, tallos jóvenes pubescentes”. 11-Cp-Cat- Dpto Santa Rosa: Pie de Cuestas de Alijilán Al Alto; S-28,18966667 / O-65,47227778; 608 m.s.m; 23/11/2014; “Arbusto de 1,5 m de longitud; diámetro de 0,022 m; en transición Chaco Serrano-Selva Pedemontana; suelo pedregoso/con humus en superficie”. 12-Cp-Cat- Dpto Valle Viejo: Cuesta del Portezuelo; S-28,47113889 / O-65,61830556; 948 m.s.m; 24/11/2014; “Arbusto de 1mt. de longitud; diámetro de 0,022 m; en Chaco Serrano; suelo rocoso/montañoso con grava; ejemplar con hojas pequeñas, muchas hojas en las espinas, espinas muy grandes; Ubicado en la ladera del cerro, muy seco”. 13-Cp-Cat- Prov. Chaco: Dpto. Almirante Brown: entre Río Muerto y Los Frentones; S- 26,336 / O-61,51872222; 146 m.s.m; 01/12/2014; “Arbusto de 2,5 m de longitud; bosque Chaqueño degradado; suelo franco/limoso; hojas no pubescentes, sin envés blanco”. 25-Cp-Cha- Dpto. O'higgins: Ruta 95, cerca de San Bernardo; S-27,29761111 / O-60,67419444; 94 m.s.m; 02/12/2014; “Arbusto de 0,60 m de longitud; en bosque Chaqueño degradado con intrusión de *Patagonula americana*; suelo franco; creciendo a la sombra”. 26-Cp-Cha- Ruta 95, cerca de San Bernardo; S-27,29761111 / O-60,67419444; 94 m.s.m; 02/12/2014; “Arbusto de 1,60 m de longitud; en bosque Chaqueño degradado con intrusión de *Patagonula americana*; suelo franco; creciendo al sol, espinas de hasta 5 cm con nudos”. 27-Cp-Cha- Prov. Córdoba: Dpto. Colón: Agua de Oro, calle El Quebracho, Barrio Parque tres Cóndores; S-31,01494444 / O-64,30391667; 832 m.s.m; 20/11/2014; “Arbusto de 2,5 m de longitud; en vegetación secundaria de Chaco Serrano; suelo limoso/pedregoso; piedras en afloramiento”. 1-Cp-Cba- Dpto. Ischilin: noroeste de Quilino, Ruta 60; S-30,01483333 / O-64,58763889; 235 m.s.m; 21/11/2014; “Arbusto de 1,80 m de longitud; suelo arenoso”. 4-Cp-Cba- Noroeste de Quilino, Ruta 60; S-30,01483333/ O- 64,58763889; 235 m.s.m; 21/11/2014; “Arbusto de 1,40 m de longitud; en bosque xerófilo del Chaco árido; suelo arenoso”. 5-Cp-Cba- Dpto. Sobremonte: camino a Cerro Colorado; S-30,10613889 / O-63,89280556; 506 m.s.m; 20/11/2014; “Arbusto de 0,80 m de longitud; suelo limoso/arenoso”. 3-Cp-Cba- Dpto. Totoral: entre Las Peñas y San José de la Dormida; S-30,54261111 / O-64,01711111; 514 m.s.m; 20/11/2014; “Arbusto de 1,10 m de longitud; suelo limoso/arenoso”. 2-Cp-Cba- Prov. Salta: Dpto. Anta: estancia La Andorrana, entre Tolloche y Talavera; S-25,51569444 / O-63,57638889; 283 m.s.m; 01/12/2014; “Arbusto de 2,5 m de longitud; diámetro de 0,022 m; en Chaco Occidental; suelo franco/limoso; hojas muy grandes pubescentes”. 22-Cp-Sal- Dpto. Capital: camino a Guemes y Monolito; S-24,82916667 / O-65,17458333; 989 m.s.m; 30/11/2014; “Arbusto de 1,72 m de longitud; en Chaco Serrano; suelo pedregoso/limoso”. 19-Cp-Sal- Camino a Cuchihuman; S-24,89416667 / O-65,00763889; 858 m.s.m; 30/11/2014; “Arbusto

J. Asmus *et al.* - Identidad taxonómica de *Celtis tala* y *Celtis pallida*

de 1,70 m de longitud; en Chaco degradado; suelo limoso; parece var. *discolor*". 20-Cp-Sal- *Dpto. Metán*: Ruta 18, cerca de El Galpón; S-25,38527778 / O-64,77541667; 587 m.s.m; 01/12/2014; "Arbusto de 1,70 m de longitud; transición pedemontana-chaco; suelo pedregoso con humus; hojas pubescentes, envés blanquecino". 21-Cp-Sal- *Prov. Santa Fe: Dpto. 9 de julio*: entrada a Pozo Borrado, ruta 95; S-28,97805556 / O-61,60530556; 81 m.s.m; 02/12/2014; "Arbusto de 2 m de longitud; en intrusión de Espinal en región Chaqueña; suelo franco, con problemas de alcalinidad". 28-Cp-S.Fe- *Prov. Santiago del Estero: Dpto Choya*: Villa La Punta, Sierras de Guasayán (parte baja); S-28,37208333 / O-64,80061111; 425 m.s.m; 25/11/2014; "Arbusto de 2,20 m de longitud; diámetro de 0,06 m; en Chaco Serrano; suelo pedregoso con grava/suelto; algunas hojas pubescentes, otras no". 15-Cp-S. Est - Villa La Punta, Sierras de Guasayán (parte baja); S-28,37208333 / O-64,80061111; 425 m.s.m; 25/11/2014; "Arbusto de 1,20 m de longitud; en Chaco Serrano; suelo pedregoso con grava/suelto; envés de la hoja blanco brillante, con estructuras redondas pubescentes podrían ser agallas, parásitos u algún otro bicho". 16-Cp-S.Est- *Dpto. Copo*: Ruta 16 entre Monte Quemado y Los Tigres; S-25,85511111 / O-62,71866667; 234 m.s.m; 01/12/2014; "Arbusto de 3 m de longitud; en fachinal de Chaco degradado; suelo limoso; hojas no pubescentes ni seríceas". 23-Cp-S. Est- Ruta 16 entre Monte Quemado y Los Tigres S- 25,85511111 / O-62,71866667; 234 m.s.m; 01/12/2014; "Arbusto de 1,62 m de longitud; fachinal de Chaco degradado; suelo limoso; hojas pubescentes pero no con envés blanquecino". 24-Cp-S.Est- *Dpto. Pellegrini*: camino a La Fragua; S-26,14161111 / O-64,39175; 383 m.s.m; 27/11/2014. "Arbusto de 2,80 m de longitud; diámetro de 0,06 m; en Chaco semiárido (camino a Cerro El Remate); suelo limoso profundo; pocas hojas, envés blanquecino". 18-Cp-S.Est- *Prov. Tucumán: Dpto. Burreyacu*: Aguas Blancas; S-26,37802778 / O-64,74502778; 655 m.s.m; 26/11/2014; "Arbusto de 0,80 m de longitud; diámetro de 0,022 m; en transición/mezcla de pedemonte y chaqueño; bosque residual de cebil y horco quebracho; suelo pedregoso; envés de la hoja blanquecina". 17-Cp-Tuc-

2 - Material adicional examinado

Celtis tala:

ARGENTINA. *Prov. Catamarca: Dpto. Ambato*: Los Varela (1 km W, camino a Humaya); 1490 m.s.m; 28/03/1995; "Arbol de 4-5 mts de altura, frutos amarillo-anaranjados; En pastizal degradado con estrato arbóreo"; Saravia Toledo et al. 12962 (CTES). *Dpto. Fray Mamerto Esquiú*: San Antonio, Jardín zoológico y botánico San Antonio; 20/09/1991; "Árbol de 8-10 mts de altura, flores verdosas, frutos inmaduros"; Ferrucci et al. 807 (CTES). *Dpto. Paclín*: La Viña, alrededor del lago del dique de Sumampa; 09/11/1993; "Frutos anaranjados"; Rotman & Ahumada 1106 (CTES, JUA). *Prov. Córdoba: Dpto. Cruz del Eje*: Ruta de Villa del Soto a Salsacate, 15 km al sur de V. del Soto; 10/02/1973; Martínez 13822 (CTES, BAA). Ruta 38 km 865, camino entre Cruz del Eje y V. de Soto; 10/02/1973; "3 m de altura"; Martínez 13823 (CTES, BAA). *Dpto. Unión*: Bell Ville, Parque Tau; 24/01/1983; "Arbol de 8 mts, frutos maduros negros" Ferrucci 180 (CTES). Bell Ville, Parque Francisco Tau; 13/10/1992; "Árbol de 5 m de altura, flores verdosas; En margen del río Ctalamochita"; Ferrucci 625 (CTES). Ballesteros, 3 km al sur; 12/03/1985; "Arbol, ramas arqueadas"; Krapovickas & Vanni 39775(CTES). *Prov. Entre Ríos: Dpto. Federación*: Santa Ana; 15/10/1968; "Flores blancas"; Gómez Sosa 95 (CTES). *Dpto. Paraná*: Paraná, Parque Gral. San Martín; 01/11/1968; "Arbolito de 3 m de altura. En barranca de río"; Boelcke & Correa 9179 (CTES, BAA). *Prov. Jujuy: Dpto. Capital*: Los Perales; 08/06/1984; "Perímetro de 50 cm, frutos naranja"; Corro et al. 16 (JUA). *Dpto. El Carmen*: Perico, río Perico; 06/01/1971; "3 m de altura"; Krapovickas & Cristóbal 17525 (CTES). Dique Las Maderas; 19/12/1996; Protomastro 1241 (CTES, MCNS). *Prov. La Rioja: Dpto. Capital*: Ruta Nacional 75 entre Sanagasta y La Rioja; 13/12/1988; "Arbol de 5 m"; Biurrún 2515 (CTES, IZAC). *Dpto. Chamental*: a 300 mts de Santa Lucía rumbo a Ruta Nac. 79; 21/10/1988; "Arbol de 8 m, 40 cm de diámetro"; Biurrún 2495 (CTES, IZAC). *Prov. Salta: Dpto. Anta*: Parque Nacional El Rey, A° Aguas Negras; 02/11/1981; "Flor blanca-amarillenta"; Brown 1567 (CTES). Finos del Rey; 08/11/1979. "Árbol 10 m de altura, diámetro de 0,35 m"; Schinini 19522 (CTES). *Dpto. Cafayate*: Cafayate, Barrio San Isidro; 1800 m.s.m.; 31/05/1905; "Árbol de 4-5 m de altura con frutos maduros naranja"; Romanczuk 353 (CTES). *Dpto. Capital*: 3 km de Salta, camino a San Lorenzo, La Loma; 10/04/1980; "Arbolito 3-4 m de altura; "En lomada al cerca de un arroyo"; Krapovickas & Schinini 35983 (CTES). *Dpto. Chicoana*:

Ruta 68, cerca dpto. La Viña, Chaco Humedo; 25/01/2007; "Árbol de 5 m con frutos inmaduros verdes"; Paula-Souza 7756 (CTES, ESA). *Dpto. Metán*: 14 km NW de El Tunal; 600 m.s.m, 04/04/1980; "Árbol de 7 m de altura"; Krapovickas & Schinini 35727 (CTES). *Dpto. Rosario de La Frontera*: 1 km W de Horcones; 27/01/2007; "Arbolito de 3 m de altura, frutos inmaduros verdes"; Paula-Souza 8013 (CTES, ESA). *Prov. San Juan*: *Dpto. Valle Fértil*: 7 km del desvío de ruta prov. 510 en dirección E a Los Bretes; 11/03/1998; "Arbol 5-6 m de altura, fruto anaranjado"; En Monte; Fortunato 5967 (CTES, BAB). *Prov. San Luis*: *Dpto. Chacabuco*: Ruta Provincial 40, 5 km oeste de Papagallo; 08/02/1999; "4 m de altura, suelo arenoso y seco"; Seijo 1834 (CTES). *Prov. Santa Fe*: *Dpto. San Lorenzo*: Monte Histórico; 27/09/1976; "Arbol 6 - 7 m de altura"; Lewis 1434 (UNR). Monte Histórico; 21/09/1982; "3 m de altura"; Pire 3795 (UNR). *Prov. Santiago del Estero*: *Dpto. Ojo de Agua*: Balneario próximo a Ojo de Agua; 10/11/1986; "Flor blanco-amarillenta"; Pérez Moreau & Petetin 3744 (CTES, BAB). *Prov. Tucumán*: *Dpto. Burruyacu*: Alto de Medina; 09/10/1965; "5-8 m de altura"; Schulz 9534 (CTES). BRASIL. *Rio Grande do Sul*: año 1833; Gaudichaud 1734 (P). URUGUAY. *Dpto. Montevideo*: Montevideo; King s.n. (K, foto 7267). *Dpto. Tacuarembó*: Ruta 31, a 15 km W de Tacuarembó; 22/01/1995; "Árbol de 12 m de altura y 160 cm de diámetro; Fruto maduro amarillo, carnoso"; "Especimen solitario al costado de la ruta sobre un puente"; Pedersen 16224 (CTES, CP).

C. pallida var. *pallida*

ARGENTINA. *Prov. Catamarca*: *Dpto. Ancasti*: El Barrial; 28/1946; "2 m de altura, con flor blanca"; Brizuela 77 (CTES, LIL). *Dpto. La Paz*: Palo Cruz, Las Tejas; 09/03/1945; "En fruto"; Brizuela 403 (CTES, LIL). *Prov. Chaco*: *Dpto. 9 de julio*: Las Breñas; 29/10/1959; "1,5-2,5 m de altura"; Schulz 10813 (CTES). *Dpto. 12 de Octubre*: Gancedo; 03/01/1975; "2,5 m de altura"; Krapovickas & Cristóbal 27168 (CTES). *Dpto. 1° de Mayo*: Colonia Benitez; 12/1937; Schulz 2329 (CTES). *Dpto. Comandante Fernández*: Napenay, Ruta Nac. 16; 29/12/1970; "2 m de altura, frutos amarillos"; Krapovickas & Cristóbal 17300 (CTES). *Dpto. Gral. Guemes*: 17 km al N de Fuerte Esperanza en dirección a Nueva Pompeya; 14/12/1999; "1-2 m de altura, flor blanca"; Fortunato 6415 (CTES, BAB). 2 km al SE de Pte. Esperanza en dirección a Castelli; 06/03/2000; "2 m de altura, fruto rojo-anaranjado"; Fortunato 6627 (CTES, BAB). Camino de Fuerte Esperanza a Taco Pozo; 30/10/1988; "En quebrachal con "palo santo"; Schinini & Pire 24916 (CTES). *Dpto. Independencia*: 5 km al sur de la Ruta Nac. 16, a 24 km al Oeste de Roque Saenz Peña; 138 m.s.m.; 21/03/2006; Aliscioni 636 (CTES, SI). Ruta 16, 15 km NW de Avia Terai; 01/11/1974; "3 m de altura, flores blancas"; Schinini et al 10018 (CTES). *Dpto. Libertador Gral. San Martín*: Campo del Sr. Eitrich, 4,5 km W de empalme de ruta vecinal con ruta prov. N° 4 a 5,5 km N del Parque Provincial Pampa del Indio; 10/03/2004; "2 m de altura, borde de bosque chaqueño"; Tressens & Ferreira 7063 (CTES). *Prov. Córdoba*: *Dpto. Cruz del Eje*: Ruta de Villa del Soto a Salsacate, 15 km al sur de V.del Soto; 10/02/1973; Martínez 12820 (CTES). *Prov. Corrientes*: *Dpto. Bella Vista*: Ruta 12, 7 km N de San Roque; 27/03/1976; Schinini & Martínez Crovetto 12851 (CTES). *Dpto. Capital*: Ruta 5, 12 km SE de Ruta 12; 11/06/1981; "2,5 m de altura. En quebrachal"; Tressens & Schinini 1275 (CTES). Ruta 5, 12 km SE de Ruta 12; 15/03/1975; "2 m de altura. En quebrachal"; Schinini 10978 (CTES). Ruta 12, 20 km NE de Corrientes, "Granja yatay"; 22/01/1976; "1,5-2 m de altura, En quebrachal"; Schinini 12495 (CTES). *Dpto. Curuzú Cuatiá*: Ea María Azucena, Ruta 25, 46 km W de Curuzú Cuatiá; 08/01/1977; "2 m de altura, flores blancas. En campos altos"; Schinini & Ahumada 13909 (CTES). *Dpto. Esquina*: Quinta Los Olivos; 11/03/1975; Krapovickas et al. 27358 (CTES). 26 km SE de Libertador, Ea. La Blanca; 12/03/1975; "3 m de altura. En bosque abierto, suelo bajo"; Krapovickas et al. 27439 (CTES). Pueblo Libertador, arroyo Barrancas; 15/03/1975; "1 m de altura, con flores blancas"; Krapovickas et al. 27818 (CTES). Arroyo Barrancas y Ruta 126; 20/10/1977; "En borde de bosque"; Ahumada et al. 1080 (CTES). 47 km W de Sauce, Ruta 126; 23/10/1977; "Borde de salitral"; Ahumada et al. 1366 (CTES). 4 km S de Ruta 126, camino de Tres Bocas a Paso Yunque; 13/03/1975; "1 m de altura, con flores blancas. En algarrobal"; Krapovickas et al. 27656 (CTES). *Dpto. Lavalle*: Río Santa Lucía y Ruta 27; 01/03/1980; "2 m de altura, con flores verdosas. En bosque abierto. Suelo salitroso"; Ahumada et al. 3400 (CTES). *Dpto. Mercedes*: Camino a Mercedes a Paso de los Libres; 17/09/1979; "5 m de altura. En quebrachal"; Schinini et al. 18666 (CTES). Cerca de Yofré; 13/04/1979; "1,5 m de altura. Fruto succulento anaranjado"; Pedersen 12450 (CTES, CP). 75 km N de

J. Asmus *et al.* - Identidad taxonómica de *Celtis tala* y *Celtis pallida*

Mercedes, Laguna Trin, Ea. Culantrillar; 24/10/1975; “2 m de altura, con flores blancas. En bosque abierto con algarrobo y ñandubay”; Schinini *et al.* 11652 (CTES). *Dpto. Saladas*: 8 km S de San Lorenzo; 09/10/1994; “1,5 m de altura. En quebrachal abierto. Suelo arcilloso”; Krapovickas *et al.* 45622 (CTES). *Dpto. San Luis del Palmar*: Ruta 6, 16 km SE de S.L. del Palmar; 24/10/1976; “2-3 m de altura. Flores blanquecinas. En quebrachal. En suelo arcilloso”; Schinini & Cristóbal 13685 (CTES). 10 km SE de San Luis del Palmar, Ruta 6; 26/09/1973; “Interior del monte”; Quarín & Tressens 1353 (CTES). *Dpto. Sauce*: 35 km N de Sauce, Ruta 12; 21/10/1977; “En bosque abierto”; Ahumada *et al.* 1203 (CTES). *Prov. Entre Ríos*: *Dpto. La Paz*: Santa Elena, 14/03/1962; Burkart 23302 (CTES, SI). *Dpto. Victoria*: Laguna de los Pescados; 05/10/1977; “2-3 m de altura”; Pedersen 11910 (CTES, CP). *Prov. Formosa*: *Dpto. Bermejo*: Ruta 81 a 1 km W de Pozo del Mortero; 171 m.sm; 14/01/2002; “1,5 m de altura, con flores blanquecinas”; Solis Neffa & Seijo 575 (CTES). *Dpto. Patiño*: Las Lomitas; 130 m.s.m; 11/12/1984; “2 m de altura. En bosque de “quebracho colorado”; Schinini & Pire 24211 (CTES). 15 km NW de Las Lomitas, camino a La Soledad; 130 m.sm; 12/12/1984; “Arbusto de 2 m de altura. En bosque xerófilo con abundancia de Carandá (*Trithrinax. sp.*)”; Schinini & Pire 24255 (CTES). Ibarreta; 01/06/1970; Martínez 154 (CTES). Bartolome de las Casas; 06/12/1972; “Flores blancas”; Maruñak *et al.* 440 (CTES). *Dpto. Pilagá*: Misión Tacaaglê; 18/11/1978; “Arbolito, ramoso, enmarañado, frutos maduros anaranjados”; Arenas 606 (CTES). *Prov. La Pampa*: *Dpto. Realicó*: Realicó; 09/01/1945; “2,5 m de altura. Flor verdosa”; Schulz 5919 (CTES). *Prov. Salta*: *Dpto. Metán*: Ruta 5, a 5km E de ruta 9; 27/01/2007; “3,5 m de altura, con frutos inmaduros verdes”; Paula-Souza 7995 (CTES, ESA). *Dpto. Rivadavia*: La Paz; 09/01/1984; “Flores amarillo-verdosas”; Arenas 2591 (CTES). *Prov. Santa Fe*: *Dpto. General Obligado*: Villa Ana, estero La Julia; 02/01/1973; Quarín 766 (CTES). La Reserva, Arroyo Las Garzas; 30/03/1975; “1,5 m de altura. Al borde del camino a la sombra de un algarrobo”; Quarín 3059 (CTES). *Dpto. 9 de julio*: Colonia El Dichoso; 10/11/1987; “Muy florecido”; Pire 2517 (CTES). Santa Margarita; 04/02/1985; “1,5 m de altura”; Fernández 7243 (UNR). *Dpto. San Jerónimo*: Arroyo Colastiné, 15 km S de Coronda, Ruta Nac. 11; 27/01/1971; “2 m de altura. Suelo salino”; Krapovickas & Irigoyen 17784 (CTES). *Dpto. Vera*: Est. Las Gamas, 19 km W de Vera, ruta 36; 21/03/1990; “2 m de altura. Frutos Rojos. En borde del camino”; Krapovickas & Vanni 43599 (CTES). Las Gamas; 08/10/1980; “3 m de altura”; Lewis & Pire 2759 (UNR). Las Gamas; 17/12/1982; “3 m de altura”; Pire 4292 (UNR). *Prov. Santiago del Estero*: *Dpto. Capital*: Arraga, Estación Exp. Agropecuaria INTA; 21/04/1983; “Arbusto de 2,30 m de altura. Fruto anaranjado. En bosque de algarrobal”; Renolfi 303 (CTES). *Dpto. Copo*: Ruta 16, 6 km SE de Los Pirpintos; 01/11/1974; “2 m de altura. Flores blanco-amarillentas”; Schinini *et al.* 10023 (CTES). Ruta 16, 15 km NW de Los Tigres; 150 m.s.m; 28/01/2007; “3 m de altura. Frutos anaranjados”; Paula-Souza 8052 (CTES, ESA). *Dpto. Guasayán*: Sierra de Guasayán, Ruta 64, km 76; 17/11/1994; “3 m de altura”; Krapovickas & Cristóbal 46205 (CTES). *Dpto. Moreno*: 12 km de Yuchán; 01/01/1974; “2 m de altura”; Krapovickas & Cristóbal 14501 (CTES). PARAGUAY. *Dpto. Amambay*: Estancia Carmen de la sierra, Potrero Lili; 22/10/1991; “2-3 m de altura, con flores blancas. En isla de bosque”; Soria 4770 (CTES, FCQ). *Dpto. Boquerón*: Paratodo; 08/12/1974; “2 m de altura. Crece en vegetación achaparrada. Frutos naranjas”; Arenas 1092 (CTES, CTESN). Estancia Toro Mocho; 16/02/2006; “Arbolito espinoso enmarañado, flores verdosas, fruto maduro naranja. Orillas bosque seco. Suelo arenoso”; Peña-Chocarro & De Egea 462 (CTES, BM). 54 km S de Madrejón (Parque Nacional Defensores del Chaco); 12/03/2005; “1 m de altura”; Fortunato 8738 (CTES, BAB). Parque Valle Natural, 8 km de Colonia Neuland; 13/03/2005; “2 m de altura. Flor anaranjada. En pastizal alterado; Fortunato 8778 (CTES, BAB). Col. Menno, 68 km NE de Filadelfia; 10/12/1992; “2 m de altura. En borde bosque de quebracho blanco y mistol”; Krapovickas & Cristóbal 44298 (CTES). Dr. Pedro P. Peña, laguna a 14 km al W del pueblo; 11/10/1987; “2 m de altura. En bosque ribereño”; Spichiger 2206 (G). El Carmen; 13/10/1987; “Arbusto apoyante de 3,5 m de altura. En bosque ribereño”; Spichiger 2257 (G). Estación Experimental Isla Poí; 26/02/1991; “2 m de altura. En Quebrachal degradado con pastura implantada”; Vanni *et al.* 2363 (CTES). Filadelfia; 26/11/1982; “3,5 m de altura, con frutos naranjas”; Hahn 812 (MO). Pozo colorado; 29/11/1988; Caballero Marmori 1502 (CTES). Campamento Laguna Capitán; 12/09/1990; “Arbusto ramoso, follaje primaveral verde claro; flores blanquecinas. En salitres”; Vanni *et al.* 2022 (CTES). Colonia Fernheim; 09/1981; Arenas 1787 (CTES, BA). Línea 9, Estancia Margarita; 25/10/1994; “2-3 m de altura, con flores verdosas. En borde de bosque xerófito”; Mereles & Degen 5823 (CTES, FCQ).

Estancia María Esther; 27/10/1994; “Arbusto sarmentoso, flores blancas. Borde de la Cañada Madrid”; Mereles & Degen 5860 (CTES). *Dpto. Pte. Hayes*: a 28 km de Pozo colorado s/ ruta a Concepción; 17/09/1993; “Arbusto espinoso de 1-2 m de altura, con flores cremosas”; Degen & Mereles 3013 (CTES, FCQ). Villa Hayes; 05/03/1984; “5 m de altura, con frutos naranjas”; Hahn 2176 (MO). Rio Verde; 02/03/1980; “En bosque bajo”; Caballero Marmorì 609 (CTES). Teniente Martínez y alrededores; 28/11/2000; “Arbusto apoyante, en fruto. En borde del bosque xerófito”; Mereles et al. 8309 (CTES). Ruta Trans-Chaco; 14/03/1979; “2 m de altura”; Schinini & Bordas 16579 (CTES).

C. pallida* var. *discolor

ARGENTINA. *Prov. Catamarca*: *Dpto. Capayán*: Sierra de Ambato (Falda E): Quebrada de San Jerónimo, unos 5 km al NW de Chumbicha; 19/02/1975; Hunziker et al. 22774 (CORD). *Dpto. Capital*: San Fernando del Valle de Catamarca; 10/1910; Castellón 14101 (LIL). *Dpto. Fray Mamerto Esquiú*: Pomancillo; 12/01/1940; Castellanos 33523 (LIL). *Dpto. La Paz*: El Quebracho; 07/12/1946; Brizuela 359 (LIL). Quirós; 11/11/1946; Malvárez 46 (LIL). La Perforadora; 11/12/1946; Brizuela 428 (LIL). *Dpto. Valle Viejo*: Comienzo de la Cuesta del Portezuelo; 14/06/1958; Morello & Cuezco s.n. (LIL). *Prov. Salta*: *Dpto. Anta*: 8 km de J.V. González, Camino a Metán; 06/05/1975; “Arbolito de 3 m de altura”; Krapovickas et al. 28153 (CTES). Joaquín V. González; 09/02/1945; Krapovickas 1720 (LIL). Joaquín V. González; 04/1959; Morello s.n. (LIL 504974). Cnel. Mollinedo; 15/01/1947; Malvárez 592 (LIL). *Dpto. General M.M de Güemes*: Cabeza de Buey; 14/02/1951. Meyer 17132 (LIL). Yaquasmé, N de Güemes; 07/02/1957; De la Sota 1340 (LIL). Arroyo saladillo, Ruta 34; 03/01/1971; “2 m de altura”; Krapovickas 17427 (CTES). *Dpto. La Candelaria*: Alrededores de La Candelaria; 17/02/1962; Meyer et al. 2211 (LIL). *Dpto. La Viña*: Coronel Moldes; 1300 m.s.m; 25/01/2007; “Arbusto de 3 m de altura, flores crema, frutos inmaduros crema”; Paula-Souza 7839 (CTES, ESA). *Dpto. Metán*: Camino Río Piedras a Metán; 05/12/1965; Villa Careno 2707 (LIL). *Dpto. Orán*: Camino de Santa Rosa a Pichanal; 16/03/1972; Legname & Cuezco 9032 (LIL). Pichanal; 10/11/1913; Rodríguez 1096 (LIL). Embarcación; 20/12/1946; Malvárez 324 (LIL). Padre Lozano; 02/01/1947; Malvárez 427 (LIL). Senda Hachada; 06/01/1947; Malvárez 466 (LIL). *Dpto. Rosario de la Frontera*: Talayaco, 28 km al Este de R. de la Frontera, Ruta 34; 29/03/1975; “Arbolito de 4 m de altura, frutos anaranjados”; Krapovickas et al. 28026 (CTES). Almirante Brown; 18/02/1947; O’Donell 5389 (LIL). Antilla a San Lorenzo; 14/01/1964; Cuezco 3337 (LIL). *Dpto. San Martín*: Angostura, Campo Durán; 18/01/1957; De la Sota 1177 (LIL). *Prov. Santiago del Estero*: *Dpto. Copo*: Los Tigres; 03/01/1947; Luna 20 (LIL). *Dpto. Río Hondo*: Mansupa; 24/01/1949; Legname 147 (LIL). *Dpto. Pellegrini*: Cerro del Remate; 15/01/1928; Venturi 5774 (LIL). Cerro del Remate; 02/04/1989; “Arbusto 2 m de altura”; Schinini 15371 (CTES, CP). *Prov. Tucumán*: *Dpto. Burreyacu*: Río Urueña, Ruta 34; 23/03/1977; “5 m de altura, frutos amarillos”; Krapovickas & Schinini 30506 (CTES). Gobernador Garmendia; 25/12/1958; Villa Careno 401 (LIL). Burreyacu; 15/12/1899; Stuckert 8026 (CORD). *Dpto. Capital*: San Miguel de Tucumán, viaducto El Saladillo; 10/11/1907; Lillo 7175 (LIL). San Miguel de Tucumán, dique El Cadillal; 17/11/1904; Lillo 3822 (LIL). *Dpto. Graneros*: El Zapallar; 11/02/1948; Sotelo 167 (LIL). Parador Campo Alegre; 08/12/1924; Schreiter 3504 (LIL). *Dpto. Trancas*: Tapia; 24/12/1911; Rodríguez 220 (LIL). Camino Tapia-Ticucho; 16/01/1955; De la Sota 55 (LIL). Vipos, Ruta 9; 16/01/1971; “Arbusto de 2 m de altura”; Krapovickas & Cristóbal 17743 (CTES). BOLIVIA. *Dpto. Tarija*: *Prov. Gran Chaco*: A 58,1 km E de Villa Montes, rumbo a Paraguay; 332 m.s.m; 10/01/2005; “Árbol de 5 a 6 m de altura. En bosque chaqueño”; Seijo et al. 3396 (CTES). PARAGUAY. *Dpto. Alto Paraguay*: Mayor Pablo Lagerenza; 06/04/1978; “Arbusto 2 m de altura. En bosque abierto de quebrachos. Suelo Arenoso”; Schinini & Bordas 14992 (CTES). Cerro León. Parque Nacional Defensores del Chaco; 03/10/1979; “Arbusto 3 m de altura. En selva de inundación”; Schinini & Bordas 18026 (CTES). *Dpto. Boquerón*: General Eugenio A. Garay, Picada de la Muerte; 350-380 m.s.m; 09/05/1988; Charpin et al. 21493 (CTES, G). Teniente Ochoa; 11/12/1987; “2 m de altura”; Schinini & Palacios 25561 (CTES). A 7 km NW de Nueva Asuncion; 12/12/1987; “Arbusto 2 m de altura, flores blancas. En una lomada. Suelo Arenoso”; Schinini & Palacios 25693 (CTES). Ruta Trans-Chaco; 07/03/1979; “Arbusto ramoso de 1,50 m de altura. En bosque abierto xerofítico. Frutos rojos”; Schinini 16458 (CTES). Teniente Enciso; 23/02/2006; “Arbusto 3 m de altura, con hojas pubescentes, fruto maduro anaranjado. En vegetación baja xerofítica. Suelo Arenoso, con pequeñas dunas”; Peña-Chocarro et al. 2538 (CTES, BM).

Material Suplementario - Tabla 1. Variables en estudio.

Caracteres	Estados	Código
Vegetativos		
Altura Individuo		Altura.m.l
Diámetro Individuo		Diámetro.m.l
Corteza	Lisa(1)/Rugosa(2)	Corteza
Color	Marrón claro(1)/Marrón claro con manchas negras(2)/Marrón claro blanquecino(3)/Marrón grisáceo(4)/Marrón rojizo(5)	Color
Lenticelas	Abundantes(A-1)/Ausentes(NO-2)/Pocas(P-3)	Lenticelas
Pilosidad Ramas Jóvenes	Casi glabras(CG-1)/Glabras(G-2)/Muy pilosas(MP-3)/Pilosas(P-4)	Ramas.Jóvenes.Pilosidad
Pilosidad Ramas Adultas	Casi glabras(CG-1)/Glabras(G-2)/Pilosas(P-3)	Ramas.Adultas.Pilosidad
Modificaciones del cormo	Ramas espinosas(1)/Espinass origen estipular(2)/Espinass de origen estipular y algunas ramass espinosas(3)	Modific.del cormo
Longitud de entrenudos		Entrenudos.Long
Longitud de la hoja		H.Long.Total
Longitud de la lámina		H.Long.Lám
Ancho de la lámina		H.Ancho.Lám
Longitud del pecíolo		H.Pec.Long
Ancho del pecíolo		H.Pec.Ancho
Ángulo del ápice		H.Ap.Angulo
Forma de la hoja	Ovada(1)/Ovada-lanceolada(2)	Forma Hoja
Margen del tercio inferior de la hoja	Dentada(D-1)/Entera(E-2)/Irregular(1)/Semi-crenada(SC-4)	Margen Hoja.Terc.Inf
Margen del tercio medio de la hoja	Dentada(D-1)/Entera(E-2)/Irregular(1)/Semi-crenada(SC-4)	Margen Hoja.Terc.Med
Margen del tercio superior de la hoja	Dentada(D-1)/Entera(E-2)/Irregular(1)/Semi-crenada(SC-4)	Margen Hoja.Terc.Sup
Número de prominencias en el margen izquierdo		M.H.Num.Prom.lz
Número de prominencias en el margen derecho		M.H.Num.Prom.Der
Contraste de la lámina (Haz-Envés)	Concolor(1)/Discolor(2)	Lam.Cont.Haz-Env
Simetría de la hoja	Asimétrico (1)/Simétrico(S)	Simetría hoja
Pilosidad del haz de la lámina	Casi glabro(CG-1)/Escasamente piloso(EP-2)/Moderadamente piloso (Mod.P-3)/Muy Piloso (MP-4)	Pilosidad.Haz.Lám
Pilosidad del haz de la nervadura	Casi glabro(CG-1)/Escasamente piloso(EP-2)/Moderadamente piloso (Mod.P-3)/Muy Piloso (MP-4)	Pilosidad.Haz.Nerv
Pilosidad del haz del pecíolo	Casi glabro(1)/Muy piloso(2)/Piloso(3)	
Pilosidad del envés de la lámina	Casi glabro(CG-1)/Densamente piloso(DP-2)/Escasamente piloso(EP-3)/Moderadamente piloso (Mod.P-4)/Muy Piloso (MP-5)	Pilosidad.Envés.Lám
Pilosidad del envés de la nervadura	Casi glabro(CG-1)/Densamente piloso(DP-2)/Escasamente piloso(EP-3)/Moderadamente piloso (Mod.P-4)/Muy Piloso (MP-5)	Pilosidad.Envés.Nerv
Pilosidad del envés del pecíolo	Casi glabro(1)/Glabro(2)/Muy piloso(3)/Piloso(4)	
Ápice de la lámina	Aguda(1)/Emarginada(2)/Mucronada(3)/Obtusa(4)	Ápice.Hoja
Base de la lámina	Asimétrica(1)/Obtusa(2)/Redondeada(3)	Base.Hoja
Número de nervaduras		H.Nerv.N°

Caracteres	Estados	Código
Ángulo entre nervadura principal y secundarias	Entre 0° y 45°(1)/entre45° y 60°(2)/entre60° y 90°(3)	Angulos entre nervs.
Contraste entre lámina y nervadura	Contrastante(1)/No contrastante(2)	Contraste color lam-nerv
Tamaño de domacios basales	Ausentes(1)/Grandes(2)/Pequeños(3)	Domacios tamaño bas.
Tamaño de domacios medios	Ausentes(1)/Grandes(2)/Pequeños(3)	D.tamaño.Medios
Tamaño de domacios superiores	Ausentes(1)/Pequeños(2)	D.tamaño.Superiores
Número total de domacios		D.N°total
Número de domacios basales		D.cantidad.basal
Número de domacios medios		D.cantidad.medio
Número de domacios superiores		D.cantidad.superior
Tipo de domacios	Ausentes(1)/Bolsillos muchos pelos(2)/ Bolsillos pocos pelos(3)	D.Tipo
Reproductivos		
Largo del fruto		Fruto.Largo.mm
Ancho del fruto		Fruto.Ancho.mm
Largo del pireno		Pireno.largo.mm
Ancho del pireno		Pireno.ancho.mm

■ Variables transformadas a variables auxiliares (dummy).

Material Suplementario - Tabla 2. Descripción de clusters para todas las variables

Grupo rojo: individuos pre identificados como *C. pallida*

Variable_estado	v.test	Media en cluster	Media gral.	DS en cluster	DS gral.	P valor
Pilosidad.Pec.Envés_4 (piloso)	4,854,509	0.53125	0.17708333	0.35216962	0.28876909	1.21E-06
D.Tipo_2 (Bols muchos pelos)	4,756,676	0.86458333	0.35416667	0.24183722	0.42472673	1.97E-06
Pilosidad.Envés. Lam_3 (Esc. Piloso)	4,405,826	0.40104167	0.13151042	0.28465341	0.24214199	1.05E-05
Pilosidad.Envés. Nerv_3 (Esc. Piloso)	3,753,881	0.390625	0.1640625	0.26408869	0.23888883	1.74E-04
Modific..del.cormo_1 (Ramas espinosas. caular)	3,345,217	1	0.58333333	0	0.49300665	8.22E-04
Corteza_1 (Lisa)	3,345,217	1	0.58333333	0	0.49300665	8.22E-04
Pilosidad.Envés.Nerv_4 (Mod. Piloso)	3,085,681	0.28645833	0.10546875	0.33018533	0.23216186	2.03E-03
Ramas.adultas. Pilosidad_3 (Piloso)	2,842,658	0.58333333	0.29166667	0.39965263	0.40611643	4.47E-03
Pilosidad.Haz.Nerv_2 (Esc. Piloso)	2,726,941	0.3125	0.17057292	0.1692508	0.20600506	6.39E-03
Margen.Hoja.Terc. Med_2 (Entero)	2,600,553	0.54166667	0.40625	0.14731391	0.20610791	9.31E-03
Simetría.Hoja_2 (Simetrica)	2,462,683	0.16145833	0.10286458	0.10031959	0.09417403	1.38E-02
Contraste.Color.Lam. Nerv_2. (No contrast)	2,430,091	0.86458333	0.6171875	0.22654753	0.4029564	1.51E-02
Ramas.jóvenes. Pilosidad_3 (Muy piloso)	2,346,359	0.75	0.48046875	0.38188131	0.45467698	1.90E-02
Lam.Cont.Haz.Env_1 (Concolor)	2,124,486	0.99479167	0.76953125	0.01727409	0.41968107	3.36E-02
D.Tamaño.Superiores_1 (Ausentes)	2,038,243	0.92708333	0.78776042	0.15694291	0.27055462	4.15E-02
Apice.Hoja_3 (Mucronada)	1,991,426	0.55208333	0.44661458	0.21924547	0.20962733	4.64E-02
D.Tamaño.Superiores_2 (Pequeños)	-2,038,243	0.07291667	0.21223958	0.15694291	0.27055462	4.15E-02
D.Cantidad.Superior	-2,097,678	0.09895833	0.359375	0.22310885	0.49138079	3.59E-02
Pilosidad.Pec.Haz_1 (Casi glabro)	-2,148,694	0.01041667	0.171875	0.03454818	0.29742274	3.17E-02
Lam.Cont.Haz.Env_2 (Discolor)	-2,158,161	0	0.22916667	0	0.42029669	3.09E-02
D.Tipo_1 (Ausentes)	-2,214,191	0.00520833	0.20052083	0.01727409	0.34914291	2.68E-02
Domacios.Tamaño. Bas_1 (Ausentes)	-2,227,616	0.01041667	0.20572917	0.02329238	0.3470388	2.59E-02
Pilosidad.Envés.Nerv_2 (Densamente piloso)	-2,260,022	0	0.22786458	0	0.39907314	2.38E-02
Pilosidad.Envés.Nerv_2 (Densamente piloso)	-2,260,022	0	0.22786458	0	0.39907314	2.38E-02
Pilosidad.Envés.Lam_2 (Densamente piloso)	-2,430,091	0.13541667	0.3828125	0.22654753	0.4029564	2.38E-02
Contraste.Color.Lam. Nerv_1. (Contrastante)	-2,462,683	0.83854167	0.89713542	0.10031959	0.09417403	1.51E-02
Simetría.Hoja_1 (Asimétrica)	-2,600,165	0.13020833	0.4453125	0.24401472	0.47966884	1.38E-02
D..Tipo_3 (Bolsillos pocos pelos)	-2,600,869	126,041,667	209,114,583	0.6311331	12,642,391	9.32E-03

Variable_estado	v.test	Media en cluster	Media gral.	DS en cluster	DS gral.	P valor
M.H.Num.Prom.der	-2,614,047	366,666,667	43,671,875	0.61784094	106,070,812	9.30E-03
H.Nerv.N.	-2,630,695	128,125	205,208,333	0.61687426	115,978,719	8.95E-03
M.H.Num.Prom.iz	-266,856	0	0.3125	0	0.46351241	8.52E-03
Modific.del.cormo_2 (Espinas orig. Estip.)	-2,813,777	166,666,667	451,125	0.74311656	400,144,954	7.62E-03
Altura.m.l	-2,861,189	0.06385417	0.07664063	0.0076113	0.01768854	4.90E-03
H.Pec.Ancho	-3,029,854	199,895,833	259,914,062	0.24714468	0.78406076	4.22E-03
H.long.lám	-3,077,747	11,221,875	142,269,531	0.23425796	0.38646592	2.45E-03
H.ancho.lám	-3,118,731	21,909,375	290,727,865	0.24932337	0.90913901	2.09E-03
H.long.total.	-3,175,031	0.0059375	0.14406771	0.01451584	0.17219837	1.82E-03
Diámetro.m.l	-3,345,217	0	0.41666667	0	0.49300665	1.50E-03
Corteza_2 (Rugosa)	-3,480,573	0.08333333	0.48958333	0.2763854	0.46198827	8.22E-04
Ramas.adultas. Pilosidad_2 (Glabro)	-3,536,506	0.23182292	0.35505208	0.04109065	0.13792004	5.00E-04
H.Pec.Long	-3,536,506	0.23182292	0.35505208	0.04109065	0.13792004	4.05E-04

Grupo azul: individuos pre identificados como *C. tala*

Variable_estado	v.test	Media en cluster	Media gral.	DS en cluster	DS gral.	P valor
Corteza_2 (Rugosa)	6,855,655	1	0.41666667	0	0.49300665	7.10E-12
D..Tipo_3 (bolsillo con pocos pelos)	6,587,018	0.990625	0.4453125	0.0298106	0.47966884	4.49E-11
H.Pec.Long	5,980,365	0.4974062	0.35505208	0.07290332	0.13792004	2.23E-09
Altura.m.l	5,848,097	8.55	451,125	313,791,332	400,144,954	4.97E-09
Diámetro.m.l	5,803,639	0.31655	0.14406771	0.13499684	0.17219837	6.49E-09
H.long.total.	5,768,122	38,123,438	290,727,865	0.5368182	0.90913901	8.02E-09
Pilosidad.Envés. Nerv_1 (Casi glabro)	5,761,836	0.809375	0.38932292	0.27984022	0.42240314	8.32E-09
H.long.lám	563,487	33,616,563	259,914,062	0.48913657	0.78406076	1.75E-08
Fruto.Largo.mm	5,524,956	78,322,812	70,724,349	0.28885065	0.79685965	3.30E-08
Modific.del.cormo_2 (Esp. Origen estip.)	546,892	0.75	0.3125	0.4330127	0.46351241	4.53E-08
Pilosidad.Envés. Lam_1(Casi glabro)	5,457,246	0.89375	0.46354167	0.2508579	0.45676222	4.84E-08
D.Tamaño.Medios_3 (Pequeños)	5,431,655	0.803125	0.4609375	0.20085267	0.3650202	5.58E-08
Apice.Hoja_1 (Aguda)	5,360,202	0.525	0.2890625	0.15360257	0.25503555	8.31E-08
Pilosidad.Haz. Nerv_1(Casi glabro)	534,161	0.91875	0.51171875	0.20358122	0.44150994	9.21E-08
Pilosidad.Haz.Lam_1 (Casi glabro)	5,288,667	0.95625	0.54557292	0.11875	0.44992396	1.23E-07
Pireno.Largo.mm	5,273,844	58,931,562	531,832,031	0.24143091	0.631541	1.34E-07
Contraste.Color.Lam. Nerv_1. (Contrastante)	5,234,833	0.746875	0.3828125	0.29413207	0.4029564	1.65E-07

J. Asmus *et al.* - Identidad taxonómica de *Celtis tala* y *Celtis pallida*

Variable_estado	v.test	Media en cluster	Media gral.	DS en cluster	DS gral.	P valor
D.Tamaño.Superiores_2 (Grandes)	5,158,702	0.453125	0.21223958	0.23952671	0.27055462	2.49E-07
D.N.total	509,929	7,228,125	411,588,542	330,431,034	353,629,317	3.41E-07
D.Cantidad.Medio	5,090,333	2,496,875	126,953,125	133,016,021	139,702,741	3.57E-07
D.Cantidad.Superior	5,048,209	0.7875	0.359375	0.47819648	0.49138079	4.46E-07
Pilosidad.Pec.Envés_1 (Casi glabro)	4,910,844	0.73125	0.37109375	0.37348653	0.42493226	9.07E-07
Ramas.adultas. Pilosidad_2 (Glabras)	4,833,753	0.875	0.48958333	0.26809513	0.46198827	1.34E-06
H.Pec.Ancho	4,724,051	0.0910625	0.07664063	0.01555497	0.01768854	2.31E-06
D.Cantidad.Basal	4,649,801	3.95	249,088,542	174,660,385	181,819,282	3.32E-06
Pilosidad.Pec.Haz_1 (Casi glabro)	4,504,976	0.403125	0.171875	0.34600115	0.29742274	6.64E-06
Fruto.Ancho.mm	422,232	62,350,937	58,677,474	0.263399	0.50409162	2.42E-05
Pireno.Ancho.mm	3,994,071	47,368,438	450,914,062	0.13436591	0.33032247	6.49E-05
Pilosidad.Pec. Haz_3 (Piloso)	3,650,433	0.59375	0.35807292	0.34261175	0.37407429	2.62E-04
H.ancho.lám	3,552,165	1,659,625	142,269,531	0.28071981	0.38646592	3.82E-04
Forma.Hoja_2 (Ovada-lanceolada)	3,441,294	0.8375	0.65755208	0.1457738	0.30297719	5.79E-04
Domacios.Tamaño. Bas_2 (Garndes)	3,375,329	0.45	0.26302083	0.3460717	0.32096816	7.37E-04
Lenticelas_3 (Pocas)	3,306,765	0.55	0.3125	0.44440972	0.41614551	9.44E-04
Ramas.jóvenes. Pilosidad_4 (Pilosas)	329,531	0.575	0.33333333	0.45483513	0.42491829	9.83E-04
Lam.Cont.Haz. Env_1 (Concolor)	3,181,834	1	0.76953125	0	0.41968107	1.46E-03
Pilosidad.Pec. Envés_2 (Glabro)	2,918,383	0.2375	0.09895833	0.38557992	0.27505721	3.52E-03
Margen.Hoja.Terc. Sup_2 (Entero)	2,871,163	0.34375	0.23567708	0.2240431	0.2180941	4.09E-03
Modific.del.cormo_3 esp. orig fol.yramasesp)	2,766,074	0.25	0.10416667	0.4330127	0.30547663	5.67E-03
Ramas.jóvenes. Pilosidad_1(Casi glabro)	2,600,487	0.225	0.10416667	0.36996621	0.269226	9.31E-03
Margen.Hoja.Terc. Inf_2 (Entero)	2,266,058	0.959375	0.90494792	0.07201074	0.13916463	2.34E-02
Apice.Hoja_2 (Emarginada)	-2,050,145	0.0125	0.0390625	0.025	0.0750705	4.04E-02
Pilosidad.Envés. Lam_5(Muy piloso)	-2,086,499	0	0.07161458	0	0.19886952	3.69E-02
Pilosidad.Envés. Nerv_5(Muy piloso)	-2,563,901	0	0.11328125	0	0.25600097	1.04E-02
Margen.Hoja.Terc. Med_4(irregular)	-2,635,124	0.00625	0.0859375	0.02724312	0.17521611	8.41E-03
Apice.Hoja_3(mucronado)	-2,670,421	0.35	0.44661458	0.1548689	0.20962733	7.58E-03

Variable_estado	v.test	Media en cluster	Media gral.	DS en cluster	DS gral.	P valor
Pilosidad.Pec. Envés_4(Piloso)	-2,926,112	0.03125	0.17708333	0.07525997	0.28876909	3.43E-03
Margen.Hoja.Terc. Sup_4(Semi-crenado)	-3,031,053	0.003125	0.10546875	0.01362156	0.19563775	2.44E-03
Pilosidad.Haz. Nerv_2(Escas. piloso)	-3,039,652	0.0625	0.17057292	0.14388581	0.20600506	2.37E-03
Domacios.Tamaño. Bas_1(Ausentes)	-3,121,764	0.01875	0.20572917	0.04463393	0.3470388	1.80E-03
Lam.Cont.Haz. Env_2(discolor)	-3,159,224	0	0.22916667	0	0.42029669	1.58E-03
D..Tipo_1(Ausentes)	-3,172,097	0.009375	0.20052083	0.0298106	0.34914291	1.51E-03
Pilosidad.Envés. Nerv_2(Densamente piloso)	-3,308,333	0	0.22786458	0	0.39907314	9.39E-04
Pilosidad.Envés. Lam_2(Densamente piloso)	-3,308,333	0	0.22786458	0	0.39907314	9.39E-04
Pilosidad.Haz. Lam_2(Escas. piloso)	-3,374,975	0.04375	0.1796875	0.11875	0.2333746	7.38E-04
Forma.Hoja_1(ovada)	-3,441,294	0.1625	0.34244792	0.1457738	0.30297719	5.79E-04
Apice.Hoja_4(obtusa)	-358,781	0.1125	0.22526042	0.08970438	0.1821009	3.33E-04
Ramas.adultas. Pilosidad_3(Piloso)	-3,804,548	0.025	0.29166667	0.10897247	0.40611643	1.42E-04
Lenticelas_1(Abundantes)	-3,906,372	0.25	0.5625	0.40311289	0.46351241	9.37E-05
Pilosidad.Haz. Lam_3(Mod. piloso)	-4,235,803	0	0.26953125	0	0.36868737	2.28E-05
Pilosidad.Haz. Nerv_3(Mod. piloso)	-4,346,574	0.01875	0.3046875	0.08172936	0.38116141	1.38E-05
Pilosidad.Pec. Envés_3(Muy piloso)	-4,658,396	0	0.35286458	0	0.43889094	3.19E-06
D..Tipo_2 (Bols. Con muchos pelos)	-4,831,511	0	0.35416667	0	0.42472673	1.36E-06
H.Pec.Angulo	-4,928,017	713,064,687	953,638,412	135,164,033	28,285,307	8.31E-07
D.Tamaño.Superiores_1 (Ausentes)	-5,158,702	0.546875	0.78776042	0.23952671	0.27055462	2.49E-07
Contraste.Color.Lam. Nerv_2. (No contrast)	-5,234,833	0.253125	0.6171875	0.29413207	0.4029564	1.65E-07
Ramas.jóvenes. Pilosidad_3 (Piloso)	-5,485,593	0.05	0.48046875	0.15	0.45467698	4.12E-08
D.Tamaño.Medios_1 (Ausentes)	-5,580,277	0.184375	0.53255208	0.16709255	0.36151752	2.40E-08
Pilosidad.Pec.Haz_2 (Muy piloso)	-5,911,151	0.003125	0.47005208	0.01362156	0.45767998	3.40E-09
Modific.del.cormo_1 (Ramas espinosas)	-6,855,655	0	0.58333333	0	0.49300665	7.10E-12
Corteza_1 (lisa)	-6,855,655	0	0.58333333	0	0.49300665	7.10E-12

J. Asmus *et al.* - Identidad taxonómica de *Celtis tala* y *Celtis pallida*

Grupo verde: individuos pre identificados como *C. pallida*

Variable_estado	v.test	Media en cluster	Media gral.	DS en cluster	DS gral.	P valor
Pilosidad.Pec. Envés_3(Muy piloso)	5,982,868	0.89453125	0.35286458	0.17776657	0.43889094	2.19E-09
Pilosidad.Envés. Nerv_2(Dens. piloso)	55,359	0.68359375	0.22786458	0.40773092	0.39907314	3.10E-08
Pilosidad.Envés. Lam_2(Dens. piloso)	55,359	0.68359375	0.22786458	0.40773092	0.39907314	3.10E-08
Pilosidad.Haz. Nerv_3(Moder. piloso)	5,514,524	0.73828125	0.3046875	0.24923589	0.38116141	3.50E-08
D.Tipo_1 (Ausentes)	5,351,323	0.5859375	0.20052083	0.37621872	0.34914291	8.73E-08
Domacios.Tamaño. Bas_1 (Ausentes)	5,311,015	0.5859375	0.20572917	0.37621872	0.3470388	1.09E-07
Lam.Cont.Haz. Env_2(Dicolor)	5,286,393	0.6875	0.22916667	0.46351241	0.42029669	1.25E-07
Pilosidad.Haz. Lam_3(Moder. piloso)	5,136,126	0.66015625	0.26953125	0.30775202	0.36868737	2.80E-07
Pilosidad.Pec. Haz_2(Muy piloso)	495,114	0.9375	0.47005208	0.125	0.45767998	7.38E-07
D.Tamaño.Medios_1 (Ausentes)	485,387	0.89453125	0.53255208	0.16494369	0.36151752	1.21E-06
Margen.Hoja.Terc. Sup_4(semi-crenado)	4,452,451	0.28515625	0.10546875	0.25094426	0.19563775	8.49E-06
H.Pec.Angulo	4,202,072	119,882,148	953,638,411	190,666,434	28,285,307	2.64E-05
M.H.Num.Prom.iz	4,125,377	30,390,625	205,208,333	0.86627204	115,978,719	3.70E-05
Margen.Hoja.Terc. Med_4(semi-crenado)	41,068	0.234375	0.0859375	0.23952671	0.17521611	4.01E-05
Modific.del.cormo_1(Ramas esp.orig.caul)	4,097,037	1	0.58333333	0	0.49300665	4.18E-05
Corteza_1 (Lisa)	4,097,037	1	0.58333333	0	0.49300665	4.18E-05
Forma.Hoja_1(Ovada)	402,087	0.59375	0.34244792	0.31093357	0.30297719	5.80E-05
M.H.Num.Prom.der	3,904,364	3,109,375	209,114,583	0.95950732	12,642,391	9.45E-05
Apice.Hoja_4 (obtus)	3,778,219	0.3671875	0.22526042	0.20714177	0.1821009	1.58E-04
Ramas.jóvenes. Pilosidad_3(Muy piloso)	3,581,702	0.81640625	0.48046875	0.28935268	0.45467698	3.41E-04
D.Tamaño.Superiores_1 (Ausentes)	3,522,854	0.984375	0.78776042	0.06051536	0.27055462	4.27E-04
H.Nerv.N.	3,427,672	51,171,875	43,671,875	0.52564832	106,070,812	6.09E-04
Contraste.Color.Lam. Nerv_2.(No contrast.)	3,242,537	0.88671875	0.6171875	0.23719012	0.4029564	1.18E-03
Margen.Hoja.Terc. Inf_1(Dentado)	2,767,076	0.09375	0.04947917	0.09375	0.07755871	5.66E-03
Pilosidad.Envés. Nerv_5(Muy piloso)	26,629	0.25390625	0.11328125	0.31519831	0.25600097	7.75E-03
Lenticelas_1(Abundantes)	2,614,644	0.8125	0.5625	0.29973947	0.46351241	8.93E-03
Margen.Hoja.Terc. Inf_4(semi-crenado)	2,495,967	0.07421875	0.02473958	0.15502449	0.09609869	1.26E-02

Variable_estado	v.test	Media en cluster	Media gral.	DS en cluster	DS gral.	P valor
Pilosidad.Haz. Lam_2(Esc.piloso)	243,423	0.296875	0.1796875	0.28081564	0.2333746	1.49E-02
Pilosidad.Haz. Lam_4(Muy piloso)	235,147	0.015625	0.00520833	0.03493856	0.02147451	1.87E-02
Entrenudos.Long	2,318,487	2,421,875	227,669,271	0.35999268	0.30355891	2.04E-02
Apice.Hoja_2(Emarginada)	2,270,216	0.07421875	0.0390625	0.10178761	0.0750705	2.32E-02
Pilosidad.Haz. Nerv_4(Muy piloso)	2,214,961	0.0390625	0.01302083	0.09342391	0.05699497	2.68E-02
Pilosidad.Envés. Lam_5(Muy piloso)	1,967,869	0.15234375	0.07161458	0.21982854	0.19886952	4.91E-02
H.Pec.Ancho	-2,312,361	0.06820313	0.07664063	0.01178808	0.01768854	2.08E-02
Ramas.jóvenes. Pilosidad_4(Piloso)	-2,376,771	0.125	0.33333333	0.21650635	0.42491829	1.75E-02
Pilosidad.Envés. Lam_3(Escas. piloso)	-2,476,431	0.0078125	0.13151042	0.02066993	0.24214199	1.33E-02
Lenticelas_3 (Pocas)	-2,548,219	0.09375	0.3125	0.19515619	0.41614551	1.08E-02
Pilosidad.Pec.Haz_1 (Casi glabro)	-2,737,715	0.00390625	0.171875	0.01512884	0.29742274	6.19E-03
H.Pec.Long	-3,005,927	0.26953125	0.35505208	0.07156881	0.13792004	2.65E-03
Pireno.Ancho.mm	-3,096,207	429,816,406	450,914,063	0.32479339	0.33032247	1.96E-03
H.long.lám	-310,999	209,613,281	259,914,063	0.49940635	0.78406076	1.87E-03
Margen.Hoja.Terc. Med_2(Entero)	-3,123,764	0.2734375	0.40625	0.20595979	0.20610791	1.79E-03
Diámetro.m.l	-3,153,139	0.0320625	0.14406771	0.04445007	0.17219837	1.62E-03
H.long.total.	-3,167,709	231,320,312	290,727,865	0.55771826	0.90913901	1.54E-03
Pilosidad.Envés. Nerv_3(Escas. piloso)	-3,170,722	0.0078125	0.1640625	0.02066993	0.23888883	1.52E-03
Contraste.Color.Lam. Nerv_1.(Contrastante)	-3,242,537	0.11328125	0.3828125	0.23719012	0.4029564	1.18E-03
Modific. del.cormo_2 (Espinas orig.estip.)	-3,268,305	0	0.3125	0	0.46351241	1.08E-03
D.Cantidad.Superior	-3,352,703	0.01953125	0.359375	0.07564421	0.49138079	8.00E-04
Margen.Hoja.Terc. Inf_2(Entero)	-3,356,414	0.80859375	0.90494792	0.18150406	0.13916463	7.90E-04
Fruto.Ancho.mm	-3,464,754	550,746,094	58,677,474	0.47396631	0.50409162	5.31E-04
D.Tamaño.Superiores_2 (Grandes)	-3,522,854	0.015625	0.21223958	0.06051536	0.27055462	4.27E-04
Altura.m.l	-3,531,467	159,625	451,125	0.59762943	400,144,954	4.13E-04
D.Cantidad.Medio	-3,551,324	0.24609375	126,953,125	0.48081796	139,702,741	3.83E-04
Domacios.Tamaño. Bas_2 (Grandes)	-3,854,489	0.0078125	0.26302083	0.03025768	0.32096816	1.16E-04
Pilosidad.Pec..Haz_3 (Piloso)	-3,880,991	0.05859375	0.35807292	0.12395806	0.37407429	1.04E-04
Forma.Hoja_2(Ovada-lanceolada)	-402,087	0.40625	0.65755208	0.31093357	0.30297719	5.80E-05
Pireno.Largo.mm	-4,046,068	479,121,094	531,832,031	0.43356886	0.631541	5.21E-05

J. Asmus *et al.* - Identidad taxonómica de *Celtis tala* y *Celtis pallida*

Variable_estado	v.test	Media en cluster	Media gral.	DS en cluster	DS gral.	P valor
Corteza_2 (Rugosa)	-4,097,037	0	0.41666667	0	0.49300665	4.18E-05
Pilosidad.Pec.. Envés_1(Casi glabra)	-4,099,795	0.01171875	0.37109375	0.03291465	0.42493226	4.14E-05
D.N.total	-410,537	112,109,375	411,588,542	119,640,345	353,629,317	4.04E-05
Apice.Hoja_1(Aguda)	-4,157,969	0.0703125	0.2890625	0.07614683	0.25503555	3.21E-05
Fruto.Largo.mm	-4,257,802	637,253,906	70,724,349	0.4734597	0.79685965	2.06E-05
D.Cantidad.Basal	-4,329,116	0.8671875	249,088,542	0.83205876	181,819,282	1.50E-05
Margen.Hoja.Terc. Sup_2 (Entero)	-4,457,071	0.03515625	0.23567708	0.0440212	0.2180941	8.31E-06
Pilosidad.Envés. Nerv_1(Casi glabra)	-4,468,037	0	0.38932292	0	0.42240314	7.89E-06
D..Tipo_3(Bolsillos cn pocos pelos)	-4,500,464	0	0.4453125	0	0.47966884	6.78E-06
D.Tamaño.Medios_3 (Pequeños)	-4,720,831	0.10546875	0.4609375	0.16494369	0.3650202	2.35E-06
Pilosidad.Envés. Lam_1(Casi glabra)	-4,919,631	0	0.46354167	0	0.45676222	8.67E-07
Lam.Cont.Haz. Env_1 (Concolor)	-5,279,107	0.3125	0.76953125	0.46351241	0.41968107	1.30E-07
Pilosidad.Haz. Nerv_1(Casi glabra)	-5,361,218	0.0234375	0.51171875	0.0658293	0.44150994	8.27E-08
Pilosidad.Haz. Lam_1(Casi glabra)	-558,363	0.02734375	0.54557292	0.07318357	0.44992396	2.36E-08

CLARIFICACIONES NOMENCLATURALES Y CIRCUNSCRIPCIÓN TAXONÓMICA DE *SCHINUS AREIRA* (ANACARDIACEAE) EN ARGENTINA

MARIA A. ZAPATER^{1*}, VÍCTOR H. AQUINO¹, CAROLINA B. FLORES¹ y
EVANGELINA C. LOZANO¹

Summary: Nomenclatural clarifications and taxonomic circumscription of *Schinus areira* (Anacardiaceae) in Argentina. *Schinus areira*, an originally South American species, is naturalized in the northwest and west of Argentina, and has a great morphological affinity with *S. molle*, with which it shares part of its distribution range. Throughout their taxonomic history, both species have been treated as independent species, as a single species with two varieties or synonymized under the same taxon. The objective of this work was to review the taxonomy of *S. areira*, to redefine the diagnostic characters of the morphology that clearly differentiate it from *S. molle* in Argentina, and to perform nomenclatural clarifications. As a result, the specimens deposited in the LINN herbarium are discarded as possible types and the name of *S. areira* is lectotypified by means of an illustration. On the other hand, the following vegetative characters of *S. areira* were identified with taxonomic value: leaf dimorphism in the same branch, presence of wings in the rachis, and number of pairs and margin of leaflets. Additionally, a dichotomous key is presented to separate *S. areira* from *S. molle*.

Key words: Anacardiaceae, lectotypification, nomenclature, *Schinus molle*, taxonomy.

Resumen: *Schinus areira*, especie originalmente sudamericana, se encuentra naturalizada en el noroeste y oeste de Argentina, y presenta una gran afinidad morfológica con *S. molle* con quien comparte parte de su rango de distribución. A lo largo de su historia taxonómica, ambas especies han sido tratadas como especies independientes, como una misma especie con dos variedades o sinonimizadas bajo el mismo taxón. El objetivo de este trabajo fue revisar la taxonomía de *S. areira*, redefinir los caracteres diagnósticos de la morfología que permitan diferenciarla claramente de *S. molle* en Argentina, y realizar clarificaciones nomenclaturales. Como resultado se descartan como posibles tipos los especímenes depositados en el herbario LINN y se lectotipifica el nombre de *S. areira* por medio de una ilustración. Por otro lado, se identificaron los siguientes caracteres vegetativos de *S. areira* con valor taxonómico: dimorfismo foliar en la misma rama, presencia de alas en el raquis y número de pares y margen de folíolos. Adicionalmente se presenta una clave dicotómica para separar *S. areira* de *S. molle*.

Palabras clave: Anacardiaceae, lectotipificación, nomenclatura, *Schinus molle*, taxonomía.

INTRODUCCIÓN

La especie *Schinus areira* L. (Anacardiaceae, Anacardioideae) fue descrita por Linneo en el año 1753 simultáneamente con *Schinus molle* L., morfológicamente muy afín. A partir de entonces ambos taxones han sido tratados como especies independientes, como dos variedades de una única

especie o como la misma especie, generándose conflictos respecto a su correcta identidad taxonómica. En 1825, De Candolle fue el primero en considerar a *S. areira* como una variedad de *S. molle*, concepto posteriormente aceptado por Cabrera (1938) y Barkley (1957). De acuerdo a Martínez-Crovetto (1963), ambos taxones son claramente especies diferentes, basándose principalmente en características florales y

¹ Facultad de Ciencias Naturales y Consejo de Investigación, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150, 4400 Salta, Argentina.

* aliciazapater@yahoo.com.ar

foliares. Sin embargo, Legname (1982) mantuvo a *S. areira* como variedad de *S. molle*. Por su lado, Muñoz (1990, 2000) en el marco de la Flora del Paraguay y para Argentina delimitó a *S. areira* y *S. molle* en base a caracteres foliares poco claros y con solapamientos como número de folíolos, la disposición, la forma y el tipo de ápices. Asimismo, *S. areira* fue citada y descripta en floras provinciales de Argentina, con caracteres que a menudo no la delimitan claramente respecto a *S. molle*, como las de San Juan (Múlgura, 2003), Salta en el Valle de Lerma (Juárez de Varela & Novara, 2007) y Mendoza (Martínez Carretero, 2009).

Otro problema que presenta la especie es sobre su origen. Para Linneo (1753), según consta en el protólogo, la localidad tipo de *S. areira* es en Perú. Más recientemente, según Demaio *et al.* (2015), *S. areira* sería una especie de origen peruano con naturalización en Argentina, Bolivia y Chile. Esta especie representaba al Inca y por ello se plantaba a la vera de las rutas de comunicación del imperio incaico para prestar abrigo a los chasquis (Demaio *et al.*, 2002). La especie habría llegado también a Norteamérica, según cita del sacerdote jesuita J. De Acosta en 1950 (Demaio *et al.*, 2002, 2015).

Respecto a la morfología de *S. areira*, hasta el momento sus descripciones, a veces como variedad de *S. molle*, resultan generalmente incompletas sin la mención de las flores perfectas (Cabrera, 1938; Barkley, 1957; Legname, 1982; Muñoz, 2000), salvo la de Juárez de Varela & Novara (2007). Incluso, por ejemplo para Demaio *et al.* (2002, 2015) la especie es dioica con flores imperfectas dispuestas en pies separados.

A pesar de los variados antecedentes que existen sobre *S. areira*, no hay acuerdo sobre su identidad taxonómica y las diferencias morfológicas entre *S. areira* y *S. molle* no son claras, por lo que se considera necesario revisar nuevamente los caracteres utilizados para delimitarlas y de ser posible, ampliarlos. Por lo expuesto, esta investigación tiene como objetivo revisar la taxonomía de *S. areira*, redefinir los caracteres diagnósticos de la morfología que permitan diferenciarla claramente de *S. molle* en Argentina, y realizar clarificaciones nomenclaturales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se consultaron las imágenes digitales de los ejemplares de Linneo depositados en el Herbario LINN que son considerados ejemplares originales

de *S. areira* y *S. molle*. Por otra parte, se estudiaron las colecciones de Argentina de ambas especies, existentes en los herbarios CTES, LIL y MCNS. Además se efectuaron nuevas colecciones de *S. areira* en zonas serranas de Jujuy, Mendoza y Salta, tanto en ambientes naturales como cultivados.

En cada individuo/espécimen se analizaron características cuantitativas: diámetro altura de pecho, altura total y de fuste, largo y ancho de folíolos, y número de pares o sub-pares y total de folíolos. Por otro lado, se analizaron las características cualitativas como disposición, márgenes y ápices de los folíolos. Para determinar las características florales (cualitativas y cuantitativas) se colectaron por separado flores pistiladas, estaminadas y perfectas en anthesis provenientes de individuos diferentes, tomadas al azar. Algunas fueron diseccionadas bajo un microscopio estereoscópico y cada una de sus piezas fueron medidas en mm con un calibre digital hasta saturación de datos; otras fueron fijadas en FAA (formol, alcohol, ácido acético) para su posterior análisis más detallado en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB; JEOL JSM-6480 LV). Las flores se deshidrataron en una serie creciente de alcoholes y fueron secadas por punto crítico (D'Ambroggio de Argüeso, 1986) en DCP-1 Critical Point-Denton Vacuum. Las muestras fueron montadas en tacos de aluminio, recubiertas con oro con un equipo Denton Vacuum Desk IV.

RESULTADOS

Tratamiento taxonómico

Schinus areira L. *Sp. Pl.* 1: 389. 1753. ≡ *Schinus molle* L. var. *areira* (L.) DC. *Prodr.* 2: 74. 1825. Tipo: Feuillée, F., *J. Obs.* 3: pl. 30 (*Lectotipo*, aquí designado). Fig. 1. A-K.

Árbol de 4-8 m de alto y tronco de 15-40 cm de diám., a veces arbusto achaparrado, corteza rugosa, fisurada, exfoliante, color marrón oscuro, ramas péndulas, con copa irregular, perennifolio, dioico o polígamo, aromático, resinoso. Hojas generalmente imparipinnadas, con pecíolos de 3-7 cm long., no alados, raquis de 10-14 cm long., subalado, (8-)10-15(-22) pares y subpares de folíolos, ovados de 2-5,3 x 0,3-0,7 cm, algo asimétricos, opuestos, subopuestos o alternos en las hojas adultas de posición distal en las ramas péndulas, margen generalmente

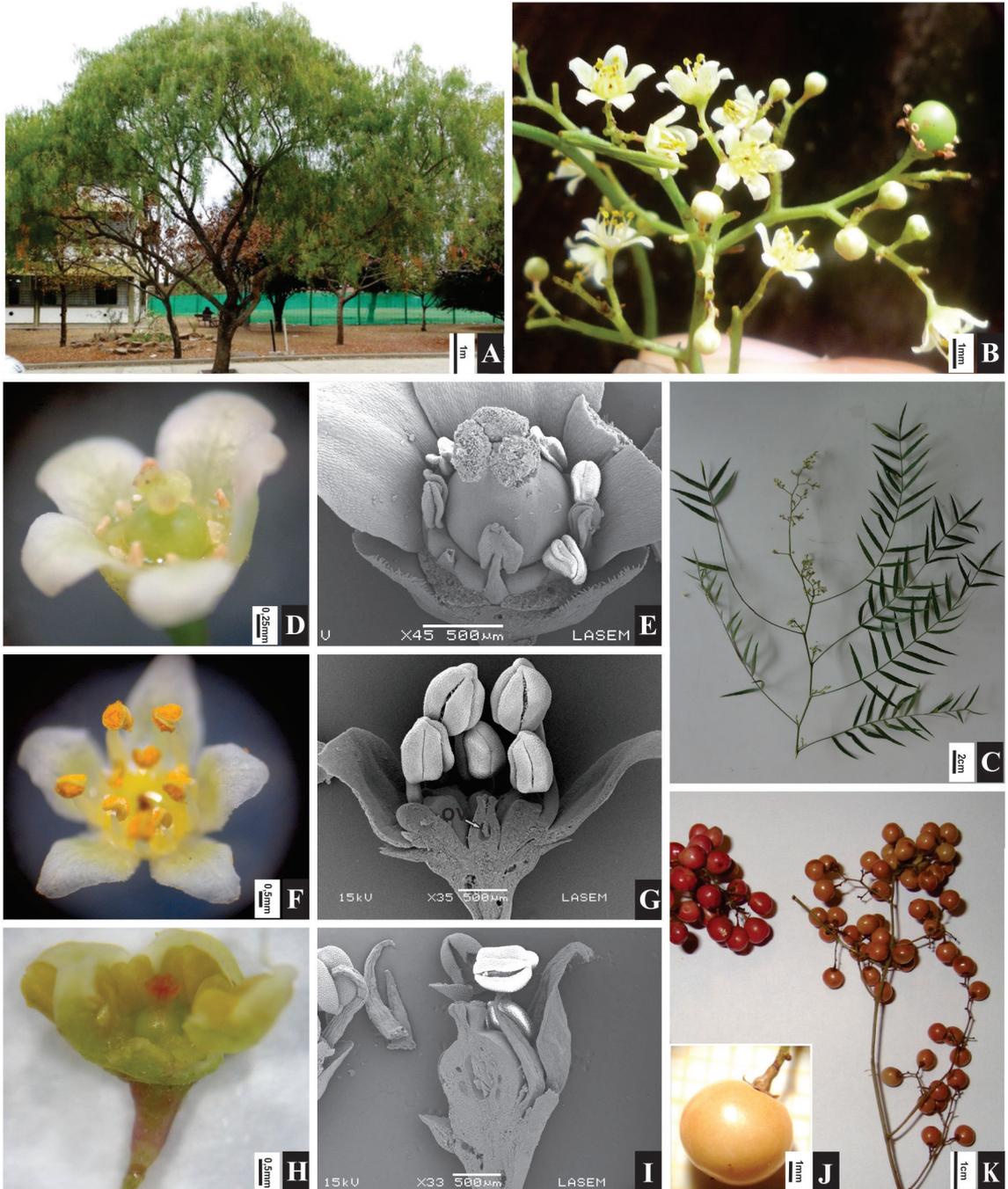


Fig. 1. A-K. *Schinus areira*. A: Hábito. B: Panícula. C: Rama florífera. D: Flor pistilada, vista superior. E: Flor pistilada, vista superior (MEB). F: Flor estaminada, vista superior. G: Flor estaminada, trans corte longitudinal (MEB), pistilodio con un óvulo incipiente (ov). H: Flor perfecta. I: Flor perfecta, trans corte longitudinal (MEB). J: Fruto. K: Panícula con drupas. Escalas= A: 1 m; B, J: 1 mm; C: 2 cm; D: 0,25 mm; E, G, I: 500 µm; F, H: 0,5 mm; K: 1 cm. Fotos: A-D, F, H, J-K por V. Aquino; E, G, I por C. A. Gómez.

entero, raro con algunos dientes; hojas proximales de las ramas péndulas, con folíolos de 3,5-6 x 0,6-0,8 cm, y margen parcialmente aserrado o dentado. Panículas péndulas de 12-60 cm long., con una panícula terminal y 2-15 panículas basales, axilares, muy ramificadas. Flores pentámeras, las pistiladas con sépalos triangulares, de 0,57-0,6 x 0,4-0,42 mm, con ápice romo y densamente ciliado; pétalos oblongos, de 2-2,2 x 0,8-1,2 mm, deflexos en la mitad apical, glabros; disco nectarífero interestaminal con lóbulos de 0,24-0,26 mm long.; estaminodios 10, filamentos de 0,4-0,43 mm long. y anteras dorsifijas de 0,38-0,4 mm long.; gineceo de ca. 1,5 mm long., ovario de 0,86-0,93 mm diám., estilo único, corto de 0,29-0,3 x 0,26-0,27 mm, con tres cabezas estigmáticas grandes de 0,21-0,34 x 0,31-0,39 mm. Flores estaminadas con sépalos triangulares, de 0,8-0,83 x 0,4-0,5 mm, ápice agudo y margen con cilios esparcidos; pétalos obovados, de 1,5-1,8 x 0,88-0,9 mm, deflexos, glabros; lóbulos del disco nectarífero de 0,8-0,9 mm long., estambres en dos ciclos pentámeros, ciclo externo largo con filamentos de 1,7-1,8 mm long. y anteras de 0,7-0,72 mm long., ciclo interno corto con filamentos de 1,3-1,35 mm long. y anteras de 0,4-0,44 mm long.; pistilodio ovado de 0,65-0,7 mm long., ovario de 0,49-0,5 x 0,42-0,43 mm con 3 estilos cilíndricos, de 0,2-0,22 x 0,072-0,09 mm, huecos. Flores perfectas raras, androceo y gineceo de longitud similar, gineceo de 1,31-1,33 x 0,8-0,83 mm, con 3 estilos cilíndricos, de 0,3-0,32 x 0,17-0,18 mm, y cabezas estigmáticas del mismo diámetro que el estilo. Drupa esférica, de 4-5 mm diám., amarillenta, lilacina o rojiza. Semilla de 1,22 x 2,78 mm, amarillenta.

Nombres comunes: “Aguaribay”, “árbol de pimienta”, “bálsamo”, “curunday”, “gualuguay”, “molle”, “molle blanco”, “molle castilla”, “pimentero”, “terebinto” (Tortorelli, 2009).

Distribución y hábitat: Habita originalmente en Perú, Bolivia y norte de Chile. En Argentina se considera naturalizada y actualmente se distribuye en el Chaco Serrano, la Prepuna y el Monte, en las provincias de Catamarca, Jujuy, La Rioja, Mendoza, Salta, San Juan, San Luis y Tucumán, entre los 1800-3000 m s.m. (Muñoz, 2000; observaciones propias). Especie pionera aún en suelos pedregosos y salinos, tolerante al frío. Extensamente cultivado en muchas provincias argentinas por su rusticidad

y rápido crecimiento (Muñoz, 2000). También ha sido citado en cultivo para México, Colombia y Ecuador (Barkley, 1957).

Fenología: En las poblaciones estudiadas silvestres y cultivadas, el inicio de floración se produjo a mediados de agosto y hasta comienzos de setiembre; la formación de flores estaminadas fue previa a las flores pistiladas en 2-3 semanas. El pico de fructificación se observó en noviembre y los frutos se encontraban maduros a mediados de diciembre.

Debido a que *S. areira* no posee un holotipo designado, y siendo los únicos materiales originales existentes conocidos para esta especie las ilustraciones de Margraf (1648) y Feuillée (1725), se intentó realizar la lectotipificación del nombre a partir de los ejemplares LINN 1193.2 y LINN 1193.3 designados de esta manera en los pliegos de herbario. Si bien ambos ejemplares coinciden exactamente con las características morfológicas foliares de un individuo pistilado con frutos inmaduros de *S. areira*, no fue posible utilizarlos como lectotipo por la incerteza respecto a su procedencia. De acuerdo a nuestro análisis no son materiales originales de *S. areira* y por ello no resultan adecuados como tipos nomenclaturales según el Linnean Plant Name Typification Project's. Por esta circunstancia y al no existir en LINN otros materiales originales de Linneo que se correspondan con la especie (M. Spencer, com. pers.), no se pudo realizar la lectotipificación pretendida con un ejemplar de herbario. Por este motivo y al no encontrarse sintipos, siguiendo el Código Internacional de Nomenclatura (Turland *et al.*, 2018), se propone en este trabajo como lectotipo la ilustración de Feuillée (1725, tabula 30) mencionada en el protólogo, que representa adecuadamente la morfología foliar descripta para la especie.

Respecto al ejemplar LINN 1193.1, actual lectotipo de *S. molle*, se considera inadecuado como tipo por tratarse de una muestra proveniente de un ejemplar cultivado en Holanda (M. Spencer, com. pers.). Como resultado del análisis morfológico de este ejemplar, se observó que si bien posee folíolos totalmente aserrados, no correspondería a *S. molle* por el número de pares y subpares de folíolos que fue de aproximadamente 15. Por otro lado, debido

a la disposición opuesta, subopuesta y alterna de los folíolos este espécimen concordaría más con algunos ejemplares raros de *S. areira* encontrados en ambientes naturales de Argentina en Jujuy (Meyer 3849, LIL) y Salta (Venturi 5374, LIL).

Como resultado del análisis foliar de las colecciones de herbario, de las colectas propias realizadas y de los ejemplares de la población cultivada estudiada se demostró la existencia de dimorfismo foliar en *S. areira* entre las hojas adultas proximales y las distales de las ramas péndulas, en tanto que en *S. molle* las hojas proximales y distales de las ramas son semejantes. Las dimensiones de los folíolos en hojas adultas de *S. molle* fueron algo mayores en largo y en ancho (4-6,5 x 0,5-1cm) que las dimensiones de los folíolos de las hojas de las ramas proximales de *S. areira* (3,5-6 x 0,6-0,8 cm), mientras que los folíolos de las hojas distales de esta especie fueron en general más cortas y delgadas (2-5,3 x 0,3-0,7 cm). Respecto al número de pares de folíolos, las hojas adultas de *S. molle* presentaron de 4 a 7 pares de folíolos siempre opuestos, en tanto que *S. areira* tuvo generalmente 10 a 15 pares o subpares, variable entre 8-22, con disposición subopuesta y alterna en el sector proximal del raquis y generalmente opuesta en la porción distal y media, a veces indistintamente. En cuanto al margen de los folíolos, en *S. molle* fue siempre completa y regularmente aserrado; mientras que en *S. areira* predominó el margen entero en los folíolos de hojas distales, raro con algunos dientes; en tanto que en las hojas proximales, los folíolos presentaron más frecuentemente un aserrado parcial, hasta un dentado casi total. Solo muy raramente (dos casos observados) el margen resultó aserrado en todos los folíolos. El ápice en *S. molle* fue generalmente acuminado recto o curvado, a veces apiculado-curvado; en *S. areira* generalmente fue agudo o apiculado-curvado, muy raro acuminado. El raquis foliar en *S. areira* se considera subalado por presentar una prolongación membranacea muy delgada, mientras que en *S. molle* el raquis es circular, isodiamétrico.

Material estudiado: ARGENTINA. *Prov. Catamarca:* *Dpto. Valle Viejo*, San Isidro, 26-XI-1950, Brizuela 1502 (LIL). *Prov. Jujuy:* *Dpto. Gral. Manuel Belgrano*, Yala, 16-V-1948, Sotelo 2013 (LIL); *Dpto. Ledesma*, Sierra de Calilegua, 800 m s.m., 13-X-1922, Venturi 5374 (LIL);

Dpto. Tilcara, Maimará, 2560 m s.m., 10-I-1912, Barkley 17768 (LIL); a 1 km al W de Ruta 9, 2450-2700 m s.m., 28-XII-1989, Novara & Bruno 9234 (MCNS); *Dpto. Tumbaya*, entre Tumbaya y Chañarcito, a orillas del río Grande, 25-IV-2001, Slanis & Bulacio 720 (LIL); Purmamarca, 12-VI-2016, Zapater *et al.* 5132 (MCNS). *Prov. Mendoza:* *Dpto. Las Heras*, Papagayos, 12-IV-1942, Ruiz Leal 8014 (LIL); *Dpto. Luján de Cuyo*, Facultad de Ciencias Agrarias, cultivado en parque, 20-IX-2017, Zapater *et al.* 5459 (MCNS); Embalse Potrerillos, 23-IX-2017, Zapater & Benci 5465 (MCNS). *Prov. Salta:* *Dpto. Cafayate*, márgenes del río Chuscha, 1600 m s.m., II-1960, Villa Carengo 1305 (LIL); ruinas de Chuschapata, 2 km al SE Banda de Arriba, 1800 m s.m., 22-I-2007, Tolaba 4176 (MCNS); *Dpto. Capital*, ciudad de Salta, Cerro San Bernardo, 12-IX-1976, Zapata 67 (MCNS); campus Universidad Nacional de Salta, árbol N° 19, cultivado, 15-III-2016, Zapater *et al.* 5100 (MCNS); ídem, árbol N° 4, cultivado, 23-III-2016, Zapater *et al.* 5107 (MCNS); ídem, árbol 26 cultivado, 25-VIII-2016, Zapater *et al.* 5163 (MCNS); ídem, árbol N° 12, cultivado, 25-VIII-2016, Zapater *et al.* 5165 (MCNS); ídem, árbol N° 24, cultivado, 25-VIII-2016, Zapater *et al.* 5166 (MCNS); *Dpto. Iruya*, camino de San Isidro a Iruya, 22° 46' 36,2" S 65° 12' 47,6" W, 14-XII-2014, Muruaga *et al.* 1902 (LIL); alrededores de Iruya, 26-II-1997, Tolaba & Ragno 802 (MCNS); *Dpto. Molinos*, Seclantás, 7-I-2018, Zapater *et al.* 5601 (MCNS); *Dpto. Rosario de Lerma*, Gólgota, 2000 m s.m., 17-I-1941, Meyer 3849 (LIL); Quebrada del Toro, Ruta 51, caserío al lado del puente, 24° 45' 25,4" S 65° 44' 48,5" W, 30-VI-2016, Zapater *et al.* 5145 (MCNS); Gobernador Solá, 30-VI-2016; Zapater *et al.* 5147 (MCNS); *Dpto. La Viña*, Brealito, 2 km antes del pueblo, 7-V-1987, Novara 6819 (MCNS); Ruta Nac. 68, Km 46,8, Garganta del Diablo, 6-VII-1985, Novara 4612 (MCNS); *Dpto. Santa Victoria*, Santa Victoria, 2385 m s.m., 1-II-1943, Meyer 4885 (LIL). *Prov. San Juan:* *Dpto. Capital*, Concepción, 15-XI-1945, Cuezco 1108 (LIL); *Dpto. Chimbass*, Desamparados, 16-XI-1945, Cuezco 1152 (LIL); *Dpto. Pocito*, La Rinconada, 21-XI-1945, Cuezco 1343 (LIL); *Dpto. Santa Lucía*, Santa Lucía, 28-XII-1945, Cuezco 2212 (LIL); *Dpto. 25 de Mayo*, Algarrobo Verde, 7-XII-1945, Cuezco 1777 (LIL). *Prov. San Luis:* *Dpto. Juan Martín de Pueyrredón*, Alto Pencoso, 27-III-1947, Terribile 781 (LIL).

Material estudiado de Schinus molle: ARGENTINA. Prov. Corrientes: Dpto. Salada, Colonia Cabral, 400 m s.m., 15-XII-1949, Schwarz 9163 (CTES, LIL, MCNS); Dpto. Santo Tomé, vuelta del Ombú, 3 km SW de Gobernador Virasoro, 22-XI-1989, Tressens *et al.* 3785 (CTES, LIL). Prov. Entre Ríos: Dpto. Capital, Paraná, 23-XII-1946, Terribile 612 (LIL). Prov. Misiones: Dpto. Apóstoles, sin localidad, 27-I-1926, Clos 1962 (LIL); Dpto. Caingüas, Ruta 105, 240 m s.m., 2-VI-1950, Schwindt 4486 (LIL); Oro Verde, 350 m s.m., 28-VIII-1950, Schwarz 10730 (LIL); Dpto. Concepción, Concepción de la Sierra, 400 m s.m., 12-XII-1946, Schwarz 3600 (LIL); Dpto. Iguazú, El Dorado, 1600 m s.m., 4-X-1949, Schwindt 2175 (LIL); Dpto. San Ignacio, Gobernador Roca, 300 m s.m., 8-IX-1945, Schwarz 1230 (LIL); Arroyo Yabebiry, 600 m s.m., 20-IX-1945, Schwarz 1278 (LIL); Dpto. Santa Ana, 22-VI-1909, Venturi 95 (LIL). Prov. Santa Fe: Dpto. Las Colonias, 10-X-1991, Hilgert 109 (MCNS).

*Clave para la diferenciación de
Schinus areira y S. molle*

1. Hojas adultas dimorfas en la misma rama, con (8-)10-15(-22) pares y subpares de folíolos opuestos, subopuestos y alternos; las hojas distales con folíolos de margen entero, raro con algunos dientes; las hojas proximales a veces con margen aserrado parcial o dentado casi total. Raquis muy estrechamente alado. *S. areira*
- 1' Hojas adultas isomorfas, con 4-7 pares de folíolos opuestos, completamente aserrados. Raquis no alado. *S. molle*

DISCUSIÓN

En Argentina, *Schinus areira* y *S. molle* pueden delimitarse claramente sobre la base del número de pares o sub-pares de folíolos y su disposición, además de la forma del raquis alado o no. Aunque Múlgura (2005) menciona que *S. molle* puede tener hojas con hasta ocho pares de folíolos, en todos los ejemplares revisados nunca se contabilizó este número siendo el máximo siete pares. Por otro lado, el margen entero sería un carácter diferencial en *S. areira* y solo válido para los folíolos de hojas

distales, aunque en algunos casos poco frecuentes y raros, todos los folíolos pueden presentar margen dentado e inclusive completamente aserrado. El ápice acuminado es el más común en *S. molle* y el agudo o apiculado-curvado en *S. areira* pero no puede considerarse como un carácter que permita una segura identificación. Según Múlgura (2003) el fruto puede tener un tamaño de 5-6 mm, que es algo mayor al medido en este trabajo.

CONCLUSIÓN

Las poblaciones argentinas de *S. areira* se pueden delimitar más ajustadamente de las de *S. molle* a través de nuevos caracteres diagnósticos foliares aportados aquí. Esto cobra importancia porque ambas especies se hallan extensamente cultivadas en las mismas áreas de Argentina. Por el contrario en los ambientes naturales de nuestro país las dos especies tienen una distribución alopatrica lo cual simplifica su reconocimiento. De todas formas, futuros estudios del área completa de la distribución de las especies y moleculares podrán aportar mayores elementos sobre la circunscripción taxonómica, variabilidad morfológica y relaciones filogenéticas de estas dos especies.

AGRADECIMIENTOS

Queremos manifestar nuestro profundo agradecimiento a los curadores de los herbarios LIL y MCNS, Dra. Nora Muruaga y Dra. Olga G. Martínez, por su gentil atención. Agradecemos especialmente al personal del Herbario LINN, Lynda Brooks e Isabelle Charmaine, por enviarnos imágenes digitales de materiales linneanos y buscar por nosotros otros ejemplares aptos para tipificación. Un especial reconocimiento a Mark Spencer, curador honorario de dicho herbario, que con total gentileza nos remitió datos de las colecciones, nos informó acerca de aspectos vinculados a los orígenes de los ejemplares y nos asesoró sobre su aptitud para ser utilizados como tipos. También a Liliana Mallo de la Biblioteca del Instituto de Botánica Darwinion por ayudarnos en la búsqueda de ilustraciones originales.

Finalmente dedicamos esta producción a quien fue nuestra compañera, la Dra. Patricia Hoc, investigadora de la UBA y el CONICET, que nos

asesoró en los trabajos iniciales de esta investigación antes de su fallecimiento en Febrero de 2017, como codirectora del proyecto de investigación en el que participamos y comprende a las Anacardiaceae de Argentina, en cuyo marco investigamos la temática de esta publicación.

BIBLIOGRAFÍA

- BARKLEY, F. A. 1957. *Schinus* L. *Lilloa* 28: 4-109.
- CABRERA, A. L. 1938. Revisión de las Anacardiáceas austroamericanas. *Revista Mus. La Plata* 2: 3-65.
- CORKIDI, L., S. CACHO & A. BURQUEZ. 1991. Dispersión del pirú (*Schinus molle* L., Anacardiaceae) por aves en Teotihuacán, México. *Acta Bot. Mex.* 15: 17-22.
- D'AMBROGIO DE ARGÜESO, A. 1986. *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- DEMAIO, P., U. O. KARLIN & M. MEDINA. 2002. *Arboles Nativos del Centro de Argentina*. L.O.L.A., Buenos Aires.
- DEMAIO, P., U. O. KARLIN & M. MEDINA. 2015. *Arboles nativos de Argentina: Centro y Cuyo*. Ecoval Ediciones, Córdoba.
- FEUILLÉE, L. E. 1725. *Journal des observations physiques, mathématiques et botaniques*, t. 3. Mariette, Paris.
- JUÁREZ DE VARELA, F. & L. J. NOVARA. 2007. Anacardiaceae. En: NOVARA, L. J. (ed.), *Flora del Valle de Lerma* 8: 1-27.
- LEGNAME, P. R. 1982. Arboles indígenas del Noroeste Argentino. *Opera Lilloana* 34: 65-66.
- MARGGRAF, G. 1648. Historia rerum naturalium Brasiliae. En: LAET, J. de (ed.), *Historia Naturalis Brasiliae*: 1-293. Hackium, Leiden; Elzevirium, Amsterdam.
- MARTÍNEZ CARRETERO, E. 2009. Anacardiaceae Lindl. *Multequina* 18: 1-12.
- MARTÍNEZ-CROVETTO, R. 1963. Estudio taxonómico-biométrico de *Schinus molle* y *S. areira* (Anacardiaceae). *Bonplandia* 1: 225-244.
- MÚLGURA, M. E. 2003. Anacardiaceae. En: KIESLING, R. (ed.), *Flora de San Juan* 2: 86-90. Estudio Sigma, Buenos Aires.
- MÚLGURA, M. E. 2005. Anacardiaceae. En: BACIGALUPO, N. M. (ed.), *Flora Ilustrada de Entre Ríos* 6 (4b): 195-208. Colección Científica del INTA, Buenos Aires.
- MUÑOZ, J. D. D. 1990. Anacardiaceae. En: SPICHIGER, R. & L. RAMELLA (eds.), *Flora del Paraguay*: 7-84. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève, Ginebra.
- MUÑOZ, J. de D. 2000. Anacardiaceae. En: HUNZIKER, J. & A. ANTON (eds.), *Flora Fanerogámica Argentina* 65: 1-28. Programa PROFLOA-CONICET, Córdoba.
- NASIR, Y. J. 1983. Anacardiaceae. En: NASIR, E. & S. I. ALI (eds.), *Flora of Pakistan* 152: 1-22. University of Karachi y Pakistan Agricultural Research Council, Islamabad.
- TORTORELLI, L. 2009. *Maderas y Bosques Argentinos*, 2. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires.
- TURLAND, N. J., J. H. WIERSEMA, F. R. BARRIE, W. GREUTER, D. L. HAWKSWORTH, P. S. HERENDEEN, S. KNAPP, W.-H. KUSBER, D.-Z. LI, K. MARHOLD, T. W. MAY, J. MCNEILL, A. M. MONRO, J. PRADO, M. J. PRICE & G. F. SMITH (eds.). 2018. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017. *Regnum Vegetabile* 159. Koeltz Botanical Books, Glashütten. Disponible en: https://www.iapt-taxon.org/nomen/page/main/art_9.html [acceso: 30 agosto 2018].

Recibido el 2 de agosto de 2018, aceptado el 3 de septiembre de 2018. Editor: Diego Gutiérrez.

OBITUARIO

ELENA ANCIBOR

1931 - 2018

El pasado viernes 9 de noviembre, cerca de la medianoche, falleció en la ciudad de Quilmes la Dra. Elena Ancibor. Fue Profesora Titular e Investigadora de la Cátedra de Anatomía Vegetal de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires y Socia Honoraria de la Sociedad Argentina de Botánica.

Nació en Polonia el 20 de abril de 1931, emigró con su familia hacia la Argentina al finalizar la Segunda Guerra Mundial. Cursó sus estudios Universitarios en la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata, donde obtuvo el título de Licenciada en Botánica en agosto de 1964. En 1970, obtuvo el título de Doctora en Ciencias Naturales en la misma Universidad, con el trabajo de tesis denominado: “Estudio anatómico y morfológico de una crucifera andina en cojín: *Lithodraba mendocinensis*”, bajo la dirección del Dr. Ángel L. Cabrera.

Fue una gran docente que, a lo largo de su extensa carrera, dictó numerosos cursos de pregrado y postgrado, no sólo en la Universidad de Buenos Aires, sino también en diferentes universidades de nuestro país. Dirigió más de una decena de tesis doctorales y formó investigadores de reconocido nivel académico. Sus discípulos continuamente encontraban en ella el consejo justo y la ayuda necesaria para continuar con las investigaciones iniciadas.

Sus publicaciones abarcan congresos, revistas nacionales e internacionales, siendo éstas sumamente variadas en el ámbito de la botánica, entre las que se destacan sus trabajos sobre la anatomía vegetal de especies actuales y fósiles.

Su rica vida interior se vio reflejada no sólo en la docencia, sino también en el arte y la religión.

Fue una eximia dibujante egresada de la Escuela Superior de Bellas Artes, lo cual se vio reflejado en sus excelentes dibujos morfológicos y anatómicos sobre la flora de Argentina que ilustraron muchas publicaciones y libros de Botánica.

Su labor como colaboradora de la Iglesia Rusa-Ortodoxa en el Extranjero fue la traducción de poesías, poemas y gran cantidad de textos de escritores rusos sobre temas religioso-históricos y filosóficos.

Fue un excelente ser humano, siempre generosa, austera, pródiga y amiga. Amaba las flores y escribía poesías que gustosamente se las leía a sus allegados. Entre sus favoritas, se destaca la escrita en 1962 durante un viaje de estudio a la Puna de Jujuy, que transcribimos:

*Sierras sin fin, escaleras gigantes
Que sube al cielo azul, ¡Tan azul!
Arroyos de piedras, puentes colgantes
Y polvo rojizo en finísimo tul.
El verde pueblo se apila en el valle,
escala laderas en denso tropel,
entre hojas de jade asoman las bayas,
y hierbas cuelgan un sedoso mantel.*

*Fuentes de rocas y riscos sin fin,
alturas sin senda y cimas invictas,
que no alcanza del hombre la mano ruin,
de todo este mundo de indómita belleza,
un hálito salvaje penetra mi ser,
mi lira enmudece ante tanta grandeza.
Una sorda congoja me hace padecer.
¿Por qué son tristes los rostros de piedra?*



*¿Por qué se esconden miedosos,
el niño y la mujer?
¿Por qué la montaña siembra
los senderos de piedra?
¿Por qué el camino es duro y largo de volver?
La raza cansada pasa silenciosa,
vencida, postergada, pero orgullosa.*

*Recordando el pasado de oro y miel.
Callan los cementerios antiguos y recientes.
Callan las moradas y los viejos pucará.
Canta el viento en los cactus
sus melodías dolientes.
¡Recordando el pasado que nunca volverá!*

Los que tuvimos la suerte de conocerla y compartir muchos gratos momentos a lo largo de los años, siempre la recordaremos por la simpleza en su vivir y la entereza de su carácter, con un noble y generoso corazón, con una amable sonrisa de bienvenida y un cálido abrazo en la despedida.

Liliana Villar de Seoane
Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia
& **Leandro C. A. Martínez**
Instituto de Botánica Darwinion

Muchos tal vez no la conocieron, otros tuvimos el placer de hacerlo, pero sólo algunos pocos supimos en detalle de su gran personalidad. Lo que no podemos negar, es que lo que hoy enseñamos sobre Anatomía Vegetal en nuestras clases lo aprendimos de ella. Fue una GRAN MAESTRA. Tal vez esa fue una de sus mayores virtudes, la de enseñar, transmitir y formar. Muchos de sus discípulos y colegas es probable que la recuerden como una persona sincera y dura en sus expresiones, ¡pero cuán acertada fue cada una de ellas! Tan sólo unos pocos tuvimos el privilegio de conocerla tal cual era, saber de su gran empatía y en más de una oportunidad ver cómo sus lágrimas acompañaban nuestro dolor. Fue terriblemente generosa, y eso, sumado a su gran inteligencia, la llevó a desprenderse en vida de todos sus bienes materiales. Es difícil despedir a alguien que marcó tanto tu vida, pero mientras quede una persona enseñando la anatomía de las plantas, ella seguirá viva.

Beatriz G. Galati
Facultad de Agronomía, UBA
& **Georgina M. Del Fueyo**
Museo Argentino Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia

Conoci a Elena cuando cursé Botánica en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la U.B.A. en 1968. Sus clases de anatomía vegetal eran claras y amenas. Más tarde, cuando aún era alumno de la facultad, fui su ayudante. También tuve su consejo cuando preparaba mi trabajo final de graduación, y seguí consultándola por muchos años, cuando ella ya era profesora en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la U.B.A. Ir a visitarla a su laboratorio allí era muy grato. Conocí su casa y ella visitó la mía. Elena dispensaba un trato a la vez cálido y reservado. Sabía mantener la distancia justa, rara vez expresaba dudas, y valoraba con generosidad el trabajo bien hecho. Se retiró de la vida académica con dignidad. Vive en sus trabajos y en sus discípulos.

Diego Medan
Facultad de Agronomía, UBA

FE DE ERRATA

Bol. Soc. Argent. Bot. 53(3): 443-458. 2018.

LECTOTIPIFICACIONES EN AMARANTHACEAE DE LA FLORA ARGENTINA

NÉSTOR D. BAYÓN y DANIEL A. GIULIANO

En la página 452, el tipo de *Brandesia rufa* Mart. corresponde a la colección C. F. P. Martius 1174. El duplicado depositado en P no presenta número de colecta en su labelo, por lo que se decidió consignar la colección como Martius s.n. Sin embargo, el ejemplar depositado en M presenta un pequeño labelo donde se lee el número 1174, el que corresponde al número de colección (Hans-Joachim Esser, curador de M, com. pers.).

En la página 453, en el párrafo de *Chamissoa maximiliani* Mart. ex Moq., el lectotipo corresponde a la colección C. F. P. Martius 180 (no a C. F. P. S. Martius).

En la página 453, el nombre *Chamissoa maximiliani* Moq. var. *pubescens* Chodat fue incorrectamente lectotipificado, dado que se trata de un *nomen nudum*.

En la página 455, en el párrafo de *Pfaffia laurifolia* Chodat, los códigos de barras correspondientes a los isolectotipos depositados en G, son los siguientes: G 00103759, G 00103760 y G 00103762.

REVISORES

El comité editorial agradece a quienes han colaborado en la
revisión de manuscritos para el volumen 53.

Pablo Aceñolaza (Centro de Investigación Científica y Transferencia de Tecnología a la Producción,
Entre Ríos)

María Cristina Acosta (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Alicia Acosta (Universidad de Roma 3, Italia)

Ramiro Aguilar (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

María Aguilera (Universidad Nacional del Dorado, Misiones)

Natalia Aguirre Acosta (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Edgardo Albertó (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomús)

Patricia Albornoz (Universidad Nacional de Tucumán)

Gastón Almándo (Universidad Nacional de La Plata)

María Betiana Angulo (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)

Adriana Aranda Rickert (Centro Regional de Investigaciones Científicas y Transferencia Tecnológica de
La Rioja)

Luis Ariza Espinar (Universidad Nacional de Córdoba)

Lorena Ashworth (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Néstor Bayón (Universidad Nacional de La Plata)

Manuel Belgrano (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)

María Bianchi (Instituto Nacional de Antropología y Pensamiento Latinoamericano, Museo Argentino de
Ciencias Naturales, Buenos Aires)

Virginia Bianchinotti (Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca)

Saúl Blanco Lanza (Universidad de León, España)

Juçara Bordin (Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Osório, Brasil)

Marcelo Cabido (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Juan Ignacio Cagnola (Universidad de Buenos Aires)

Ana Calviño (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Juan José Cantero (Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba)

Lucas Carbone (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Alejandro Casas (Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, UNAM, Morelia,
México)

Lucía Castello (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Laura Chalup (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)

Franco Chiarini (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Claudio Chimenti (Universidad de Buenos Aires)

- Paula de Tezanos Pinto (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)
Rocío Deanna (Universidad Nacional de Córdoba)
Silvia Denham (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)
Marcela Espinosa (Universidad Nacional de Mar del Plata)
Cecilia Estrabou (Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas, Córdoba)
Alejandra Fazio (Universidad de Buenos Aires)
Ana Ferreras (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)
María Silvia Ferrucci (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)
Pedro Fiaschi (Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil)
Renee Fortunato (Instituto De Investigación Recursos Biológicos, INTA, Hurlingham)
Sebastian Fracchia (Centro Regional de Investigaciones Científicas y Transferencia Tecnológica de La Rioja)
María Amela García (Universidad de Buenos Aires)
Gustavo Gergoff Grozoff (Universidad Nacional de La Plata)
Adonis Giorgi (Universidad Nacional de Luján)
Melisa Giorgis (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)
Liliana Giussani (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)
Evangelina Glinos (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)
Graciela González (Universidad de Buenos Aires)
Alina Greslebin (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco Esquel, Chubut)
Mariana Grossi (Universidad Nacional de La Plata)
José María Guerrero (Universidad Nacional de La Plata)
Valeria Guinder (Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca)
Diego Gutiérrez (Museo Argentino de Ciencias Naturales, Bernardino Rivadavia, CABA)
Esteban Hernández Bermejo (Universidad de Córdoba, España)
Julio Hurrell (Universidad Nacional de La Plata)
Leopoldo Iannone (Universidad de Buenos Aires)
Irina Izaguirre (Universidad de Buenos Aires)
Pedro Jaureguiberry (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)
Liliana Katinas (Universidad Nacional de La Plata)
Héctor Keller (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)
Roberto Kiesling (Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas, Mendoza)
Juan Larrain (Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile)
María Laura Las Peñas (Universidad Nacional de Córdoba)
Silvia López (Universidad de Buenos Aires)
María Liza López (Universidad Nacional de San Juan)
Juan López Acosta (Centro de Investigaciones Tropicales, Universidad Veracruzana, México)
María Luna (Universidad Nacional de La Plata)
Carmen Macluf (Universidad Nacional de La Plata)
Alicia Marticorena (Universidad de Concepción, Chile)
Guillermo Martínez Pastur (Centro Austral de Investigaciones Científicas, Ushuaia)
Ricardo Masuelli (Instituto de Biología Agrícola, Mendoza)

Marisa Matesevach (Universidad Nacional de Córdoba)
James Mauseth (Universidad de Texas, Austin, Estados Unidos)
María Inés Mercado (Fundación Miguel Lillo, Tucumán)
Esteban Meza Torres (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)
Soledad Molares (Centro de Investigaciones de Montaña y Estepa Patagónica, Esquel)
Ramón Morales (Real Jardín Botánico de Madrid, España)
Andrés Moreira Muñoz (Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile)
Patricia Muniz de Medeiros (Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil)
María de los Ángeles Negritto (Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia)
Marcela Nicola (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)
Daniela Nitiu (Universidad Nacional de La Plata)
Nicolás Niveiro (Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes)
Javier Nori (Instituto de Diversidad y Ecología Animal, Córdoba)
María Novas (Universidad de Buenos Aires)
Luis Oakley (Universidad Nacional de Rosario)
Nataly O'Leary (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)
Noelia Patterer (Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción,
Diamante)
Carolina Peichoto (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)
José Pensiero (Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe)
Edmundo Ploschuk (Universidad de Buenos Aires)
Eduardo Puchetta (Universidad Nacional de San Juan)
Andrea Reutemann (Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe)
Juan Manuel Rodríguez (Universidad Nacional de Córdoba)
María Alejandra Rodríguez (Universidad de Buenos Aires)
Andrea Romero (Universidad de Buenos Aires)
Adriana Rovere (Universidad Nacional del Comahue, Bariloche)
Marina Saka (Universidad Estatal Paulista, San Pablo, Brasil)
Roberto Salas (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)
María Laura Sánchez (Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires)
Gisela Sancho (Universidad Nacional de La Plata)
Agustín Sanguinetti (Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada, CABA)
Jose Scervino (Universidad Nacional del Comahue, Bariloche)
Pedro Bond Schwartsburd (Universidad Federal de Viçosa, Brasil)
Stella Solís (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)
Pablo Speranza (Universidad de la República, Montevideo, Uruguay)
María Laura Suárez (Universidad Nacional del Comahue, Bariloche)
Inés Sunesen (Universidad Nacional de La Plata)
Eduardo Tambussi (Universidad Nacional de La Plata)
Teresa Terrazas Salgado (Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México, México)
Santiago Trupkin (Instituto de Investigación Floricultura, INTA Hurlingham)

Bol. Soc. Argent. Bot. 53 (4) 2018

Estrella Urtubey (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)

José Vesprini (Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario)

Gisela Mariel Via do Pico (Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes)

Jessica Viera Barreto (Universidad Nacional de La Plata)

María Vignale (Instituto de Micología y Botánica, Buenos Aires)

Favio Vossler (Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción, Santa Fe)

Amelia Vouilloud (Universidad Nacional de La Plata)

Diego Wassner (Universidad de Buenos Aires)

Cassiano Welker (Universidad Federal de Uberlandia, Minas Gerais, Brasil)

Carlos Wetzel (Instituto de Ciencia y Tecnología de Luxemburgo)

Agustina Yañez (Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, CABA)

Richard Zander (Missouri Botanical Garden, St. Louis, USA)

Christian Alejandro Zanotti (Instituto de Botánica Darwinion, San Isidro)

Gabriela Zarlavsky (Universidad de Buenos Aires)

Sebastian Zeballos (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

Alejandro Zucol (Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción
Diamante)

SOCIEDAD ARGENTINA DE BOTÁNICA

Comisión Directiva

Presidente: Gabriel Bernardello
Vicepresidente: Gloria E. Barboza
Secretaria: M. Laura Las Peñas
Tesorero: Gustavo Delucchi
Protesorero: Claudio A. Sosa
Secretaria de Actas: Natalia Evelin Delbón

Vocales Titulares:

Lucas Carbone, Rocío Deanna, Juan J. Cantero, Rita Morero, Raquel Scrivanti,
y Cecilia Trillo

Vocales suplentes:

María C. Luján, Adriana N. Perez, Federico O. Robbiati y Melina Scandaliaris

Revisores de cuentas:

Pablo Horacio Demaio y Ana Sofía Machado

Para asociarse, puede contactarse con la sede central de la sociedad, o bien consultar en su página “web”, las direcciones de los 34 representantes locales distribuidos en todo el país.

Categorías de asociados:

Protectores: aquellos que abonan una cuota anual doble a la de un socio activo.

Benefactores: los que donan una suma equivalente o mayor a cien cuotas anuales de socio activo, o bien que pagan una cuota anual equivalente a diez veces la de socio activo.

Vitalicios: los que pagan de una sola vez el equivalente a 30 cuotas de socio activo.

Activos: los que pagan la cuota societaria que se establece cada año.

Institucionales: personas jurídicas que pagan una cuota anual no menor a la de socio activo.

Adherentes: estudiantes de nivel terciario que pagan una cuota societaria equivalente al 50% de la cuota anual de socio activo.

Secretaria de edición:

Adriana N. Perez (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba)

La diagramación de la tapa corresponde a Diana Abal Solís.

El diseño del isotipo de la S.A.B. pertenece a Nidia Flury.

La composición y el armado del presente volumen fueron hechos por María Cecilia Puigbo (IBONE).

La Sociedad Argentina de Botánica es una asociación civil sin fines de lucro, cuyos propósitos son:

- a) agrupar a los profesionales y aficionados a la Botánica
- b) fomentar el progreso de todas las ramas de esta ciencia
- c) editar trabajos de investigación botánica
- d) propender al mejoramiento de la enseñanza de la Botánica, en todos los niveles
- e) estimular la protección de la vegetación natural
- f) organizar y auspiciar reuniones científicas
- g) llevar a cabo excursiones botánicas
- h) contribuir a una mayor precisión de la terminología botánica.



Sede Central

SOCIEDAD ARGENTINA DE BOTÁNICA

Museo Botánico

Av. Velez Sarsfield 299

Casilla de Correo 495

5000 Córdoba, Argentina

Tel./Fax 54 351 4332104

e-mail: sabotonica@gmail.com

Domicilio legal: Av. Angel Gallardo 470

CP (C1405DJR)

Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Argentina

Página WEB: <http://www.botanicaargentina.com.ar/>

En venta en la Argentina y en el exterior:

LIBRERÍA L.G.C

Pasaje Gallego 3570

CP (C1240ACD)

Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Argentina

Teléfono: (011) 49241140.