

MICROMORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LOS FRUTOS EN *BULBOSTYLIS* (CYPERACEAE) Y SU VALOR SISTEMÁTICO EN LAS ESPECIES DE AMÉRICA AUSTRAL

MARÍA GABRIELA LÓPEZ¹ y ANA MARIA GONZALEZ^{1,2}

Summary: Micromorphology and structure in fruits of *Bulbostylis* (Cyperaceae) and their systematic value in Southern America species. The genus *Bulbostylis* Kunth includes about 150 species that inhabit tropical and subtropical areas worldwide. In *Bulbostylis*, as in other kinds of sedges, the exomorphology of fruits is one of the steadiest characters for infrageneric classification. This research was focused on evaluating achene micromorphology in twenty *Bulbostylis* species of Southern America (Argentina, Chile, Paraguay, Uruguay and Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul in Brazil). Based on studies with optical and scanning electron microscopy, several groups are proposed, considering the micromorphology of the achenes and presence and type of silicophytoliths. Chemical microanalysis of fruits with EDX/MEB was also performed. The description system based on exomorphological characters, applicable to fruits and seeds, is updated.

Key words: Southern America, anatomy, achenes, *Bulbostylis*, Cyperaceae, SEM/EDX, micromorphology.

Resumen: El género *Bulbostylis* Kunth incluye aproximadamente 150 especies que habitan zonas tropicales y subtropicales en todo el mundo. En *Bulbostylis*, al igual que en otros géneros de Ciperáceas, la exomorfolgia de los frutos es uno de los caracteres más estables para la clasificación infragenérica. En este trabajo se dan a conocer la micromorfología y estructura de los frutos de *Bulbostylis* para veinte especies de América Austral, representadas en Argentina, Brasil (Paraná, Santa Catarina y Rio Grande do Sul), Chile, Paraguay y Uruguay. En base a estudios con microscopía óptica y electrónica de barrido se proponen agrupamientos, teniendo en cuenta la micromorfología de los aquenios así como la presencia y tipo de silicofitolitos. También se realizan microanálisis químicos de los frutos con EDX/MEB. Se actualiza el sistema de descripción basado en caracteres exomorfológicos, aplicable a frutos y semillas.

Palabras clave: América Austral, anatomía, aquenios, *Bulbostylis*, Cyperaceae, EDX/MEB, micromorfología.

INTRODUCCIÓN

El género *Bulbostylis* Kunth incluye aproximadamente 150 especies que habitan zonas tropicales y subtropicales en todo el mundo. Algunas especies llegan a zonas templadas, siendo el límite sur de distribución en América los 42° S. El género tiene dos importantes centros de diversidad: África y América del Sur (especialmente el centro

de Brasil). La mayoría de las especies se encuentran en hábitats abiertos, tales como las sabanas, con suelos arenosos y en algunos casos húmedos en parte del año (López, 2012).

En la mayoría de los géneros de Cyperaceae la exomorfolgia de los frutos es uno de los caracteres más estables para la clasificación infragenérica. Ejemplos de estudios que demuestran el valor taxonómico de la exomorfolgia de los frutos dentro de la familia son los realizados en especies de *Bolboschoenus* (Ascherson) Palla (Browning *et al.* 1997), *Carex* L. (Walter, 1975; Toivonen & Timonen, 1976; Raymond & Wujek 1983; Wujek & Menapace, 1986; Menapace & Wujek 1987; Standley, 1987, 1990), *Cyperus* L. (Denton, 1983;

¹ Facultad de Ciencias Agrarias. Sto. Cabral 2131. Corrientes, Argentina. mglopez2000@yahoo.com.ar

² Instituto de Botánica del Nordeste, UNNE-CONICET. Sto. Cabral 2131. Corrientes, Argentina. anitama39@gmail.com

Lye, 1983; López & Matthei 1995; Araújo & Longhi-Wagner, 1997; Hefler & Longhi-Wagner, 2008), *Eleocharis* R. Brown (Menapace, 1991; 1993), *Eriophorum* L. (Schuyler, 1971) *Fimbristylis* Vahl (Wujek *et al.* 1994; Menapace *et al.* 2003), *Rhynchospora* Vahl (Ragonese *et al.* 1984; Strong, 2006), *Scirpus* L. (Schuyler, 1971) y *Scleria* Bergius (Wujek *et al.* 2001). En *Bulbostylis* también la exomorfolgia del fruto es uno de los caracteres de interés taxonómico usado con mayor frecuencia en la delimitación interespecífica (Goetghebeur, 1984; Goetghebeur & Coudijzer, 1984; Prata *et al.* 2008). Sin embargo, dentro del género, los estudios relacionados con el fruto han estado restringidos a ciertos aspectos morfológicos como el contorno, espesor del mesocarpio y endocarpio, y a caracteres micromorfológicos como el diseño de las células de la superficie, presencia o ausencia de cuerpos de sílice. La mayoría de estos estudios fueron realizados exclusivamente con microscopía electrónica de barrido, y en algunos casos se analizaron frutos inmaduros. En el trabajo de Prata *et al.* (2008), realizado para especies de Brasil, estos caracteres carpológicos fueron relacionados con el tipo de inflorescencia.

La presencia de sílice en células de las Cyperaceae se conoce desde 1872 según Mehra & Sharma (1965), carácter estudiado también por Metcalfe (1971), Schuyler (1971) y Bertoldi de Pomar (1975), entre otros. La particular forma de cono y superficie lisa de los silicofitolitos caracteriza a las especies de esta familia según Piperno (1988). Ollendorf (1992) ofrece la mejor compilación para la familia, aunque estudia solo dos especies de *Bulbostylis*.

En 2010, Gonzalez y López estudiaron la anatomía y ontogenia del fruto de *Bulbostylis capillaris* (L.) C.B. Clarke, sensu Barros (*B. communis* M.G. López & D. Simpson) y *B. major* Palla [= *B. sphaerolepis* (Boeck.) Beetle], identificando qué estructura del pericarpio determina los diversos diseños de la superficie del aquenio. En dicho trabajo se constató que las tres capas de la pared carpelar se diferencian en epicarpio, mesocarpio y endocarpio, sin cambios en el número de estratos; el fruto maduro presenta esclereidas en el mesocarpio, mientras que el epicarpio puede o no formar cuerpos de sílice que impregnan las paredes tangenciales internas.

En *Bulbostylis* las especies son muy semejantes

en su aspecto morfológico y en algunos casos muy difíciles de diferenciar si no se observa el fruto. En este estudio se realizó el análisis macro- y micromorfológico de los aquenios y el microanálisis de elementos químicos que constituyen la pared del fruto de 20 especies de *Bulbostylis* de América Austral, en un intento por delimitar agrupamientos taxonómicos basados en los caracteres exomorfológicos y anatómicos de los frutos que permitan establecer relaciones interespecíficas.

Para estandarizar la descripción de la epidermis o la superficie de una semilla el estudio más exhaustivo es el de Barthlott (1981), quién analizó con MEB cerca de 5000 especies y estableció la significancia de este carácter en estudios taxonómicos. Esta terminología se usó y se amplió en el presente análisis de los frutos de *Bulbostylis*, generando un sistema más completo, factible a ser aplicado a la descripción de diásporas de otros taxones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron frutos de 20 especies de *Bulbostylis* de América Austral de ejemplares del Herbario "Carmen L. Cristóbal" del Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes, Argentina (CTES), y un ejemplar del Herbario Fundación Miguel Lillo (LIL). Los materiales utilizados y su procedencia se encuentran en el Anexo I. De cada especie se tomaron frutos maduros de entre dos y cinco ejemplares de diferentes localidades.

Microscopía electrónica de barrido (MEB): para este análisis diez frutos de cada especie se dividieron en dos grupos: a la mitad se le realizó un pretratamiento en el cual se extrajo la pared periclinal externa siguiendo la técnica de Schuyler (1971). Para ello los frutos se colocaron en una solución de anhídrido acético y ácido sulfúrico (9:1), seguido de 2-3 lavados con centrifuga durante 5 minutos, para la remoción total de las impurezas. Al segundo grupo de frutos no se le retiró la pared periclinal externa. Los frutos de ambos grupos fueron metalizados con Oro para la observación con MEB modelo JEOL LV 5800 del Servicio de Microscopía de la UNNE, Corrientes.

La detección del contenido cualitativo de sílice y su distribución en la superficie del fruto se realizó

con análisis EDX (Espectroscopía por Energía Dispersiva de Rayos-X), técnica analítica usada para caracterización química por medio de EDX/MEB. Para ello se usaron ± 6 frutos maduros por especie, los que se montaron sin pretratamiento en una platina de cobre y se metalizaron con Oro. Se usó un Microscopio Electrónico de Barrido marca Philips modelo SEM 505 con Digitalizador de Imagen Soft Imaging Sistem ADDA II y detector de EDS marca EDX de ventana ultrafina (UTW), dispersivo en energías, que permite determinar elementos livianos de $Z > 5$ (a partir de boro) a 20KV; las condiciones del mapeo fueron spot 500, a igual magnitud que la imagen (CINDECA, CONICET-Universidad Nacional de La Plata). Las dos formas distintas de presentación cualitativa de datos que provee el EDX son *Espectro*, que identifica los elementos presentes en la microárea analizada y *Mapeo de puntos* que muestra la localización espacial de los elementos presentes en la zona de análisis.

Microscopía óptica (MO): para observaciones de las células del pericarpio se procedió al macerado de los frutos usando solución de Schulze (Parr *et al.*, 2001). Las observaciones se realizaron en microscopio óptico Leica MZ6 con luz polarizada y sistema de captura digital de imágenes. La identificación del sílice se realizó con fenol que tinte de color rosa pardo dicho elemento (Johansen, 1940).

Para la descripción de los frutos de *Bulbostylis* se siguió la terminología de Lindley (1951), Barthlott (1981) y Lye (1983, 2000). También se utilizó el trabajo de Stace (1965) para describir la ondulación de las paredes epidérmicas y el de Barthlott *et al.* para nomenclatura de ceras (1989). Para el presente estudio se siguieron las reglas del "International Code for Phytolith Nomenclature" (ICPN WORKING GROUP, 2005).

RESULTADOS

Estructura morfo-anatómica del aquenio

Los aquenios de las especies estudiadas de *Bulbostylis* se caracterizan por ser en general obcónicos a obovoides, trígono (Fig. 1 A). Su tamaño es pequeño, oscila desde 0,6 a 1,5 mm de largo x 0,5 a 1,4 mm de ancho. Presentan un estilopodio apical (Figs. 1 A; 2 A,D,G,J,M,P,S; 3

A,D,G,J; 4 A,D,G,J,M,P,S,V). Las particularidades de cada especie se muestran en la Tabla 1.

Anatómicamente el pericarpio de los aquenios de *Bulbostylis* está formado de tres capas uniestratificadas: epicarpio, son células tabulares, de paredes delgadas, celulósicas (Fig. 1A, C); mesocarpio, constituido por esclereidas dispuestas longitudinalmente en el fruto, con paredes externas sinuosas a profundamente crestadas (Fig. 1B, K-P), y endocarpio, células alargadas pero dispuestas transversalmente en relación al eje mayor del fruto y en ángulo recto con respecto a las esclereidas del mesocarpio (Fig. 1 B).

Para describir la superficie de los aquenios se consideró la clasificación de Barthlott (1981), la cual fue adaptada para el género en estudio:

Macroescultura: describe la topografía general en vista superficial; no se tiene en cuenta el diseño de cada célula en particular sino el arreglo de las diversas capas y su apariencia en toda la superficie del fruto. Barthlott (1981) no consideró esta categoría en su clasificación. Solo menciona "arregement of epidermal cell" o "celular patterns". En *Bulbostylis* la macroescultura del fruto varía de más o menos lisa (Fig. 2 U) a punteada (Fig. 3 D, G; 4 P, V), ondulada o crestada (Fig. 2 J, M), con elevaciones de diversas alturas y extensión. Cuando se describen ondas o crestas, están siempre dispuestas transversalmente en el fruto y están formadas por la superficie de las esclereidas del mesocarpio (Fig. 2 A). En el caso de los frutos punteados, los silicofitolitos son tan evidentes que se observan exomorfológicamente (Fig.4 P).

Escultura primaria: básicamente es la forma de las células (epidérmicas) en vista superficial (Figs. 2-4). Este carácter está influenciado por cuatro microcaracteres:

Contorno de las células: varía entre isodiamétricas, poligonales a alargadas (Figs. 2-4).

Paredes anticlinales: se analiza su grado de sinuosidad. Barthlott (1981) describe este carácter exclusivamente para la pared anticlinal externa, es decir en vista superficial. Los límites de las células varían de paredes rectas (Fig. 2 B, H, N, Q, U) a onduladas, en este caso se usaron los siguientes descriptores: "()", "C", "V" y "Ω" (omega), (Figs. 1 C, 2-4). En *Bulbostylis* se pudo observar además, debido a los tratamientos de eliminación de la pared tangencial externa, que la pared anticlinal interna siempre es ondulada (Fig. 1 D-H).

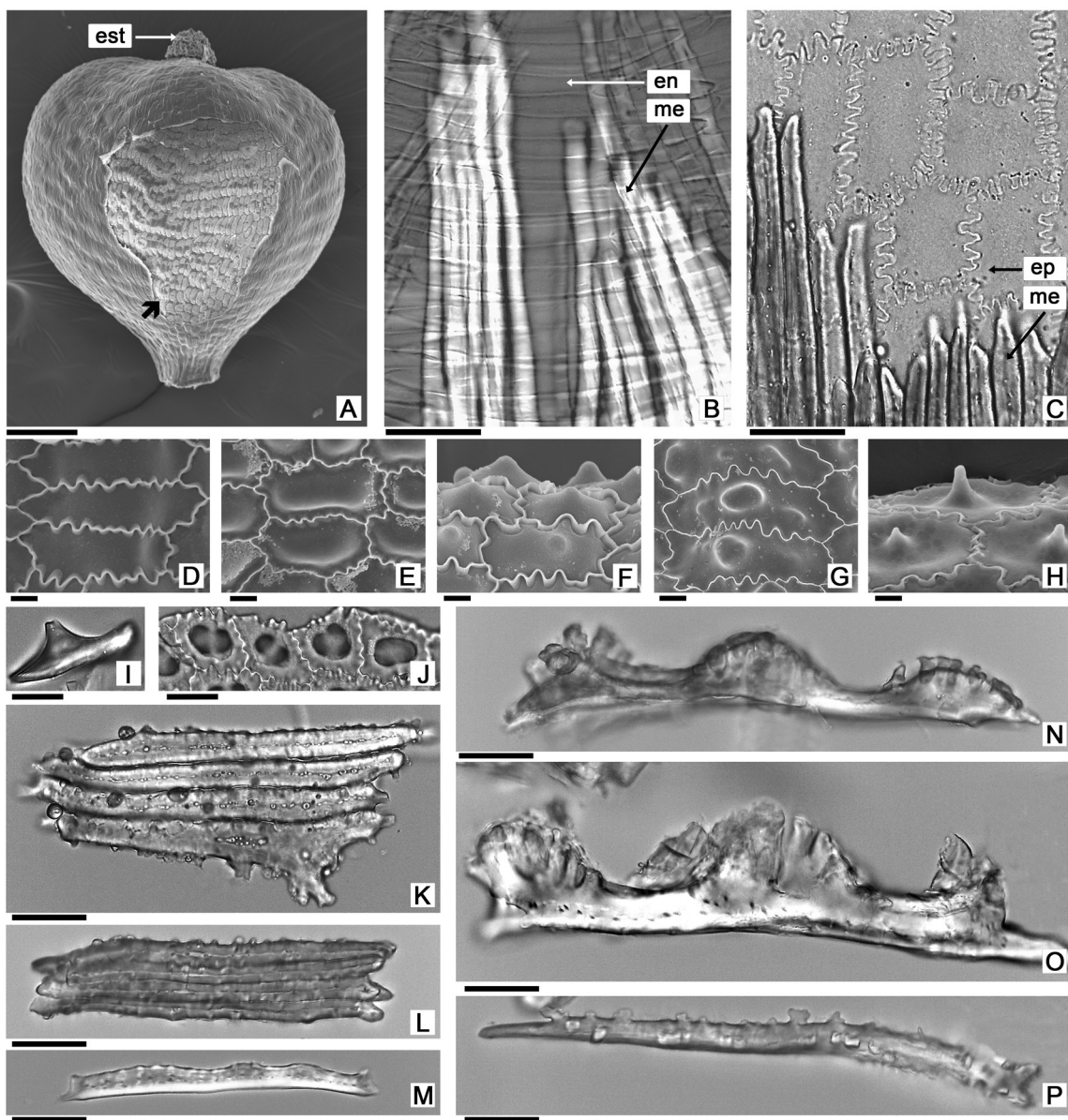


Fig. 1. Estructura morfo-anatómica de los aquenios. Detalles de las células del epicarpio y esclereidas del mesocarpio. A: *B. scabra*, fruto con estilopodio (est) y epicarpio parcialmente desprendido, (flecha, foto con MEB). B-C: pericarpio macerado (MO), B: *B. communis*, endocarpio (en) y mesocarpio (me). C: *B. hirtella*, mesocarpio (me) y epicarpio (ep). D-H: epicarpio acetolizado sin pared externa (MEB). D: *B. aspera*, sin cuerpos de sílice. E: *B. jacobinae*, silicofitolitos globosos. F: *B. juncooides*, silicofitolitos cónicos de ápice redondeado; G: *B. consanguinea*, silicofitolitos cónicos con múltiples ápices. H-I: *B. loefgrenii*, silicofitolitos cónicos de ápice agudo, I: silicofitolito macerado, MO. J: *B. sphaerocephala* vista superficial de epicarpio con silicofitolitos con múltiples ápices. K-P: esclereidas del mesocarpio (macerado, MO). K: *B. scabra*. L: *B. jacobinae*. M: *B. hirtella*. N: *B. juncooides*. O: *B. sphaerolepis*. P: *B. subtilis*. Escalas= A: 200 μ m, B-C, K-P: 25 μ m, D-J: 10 μ m.

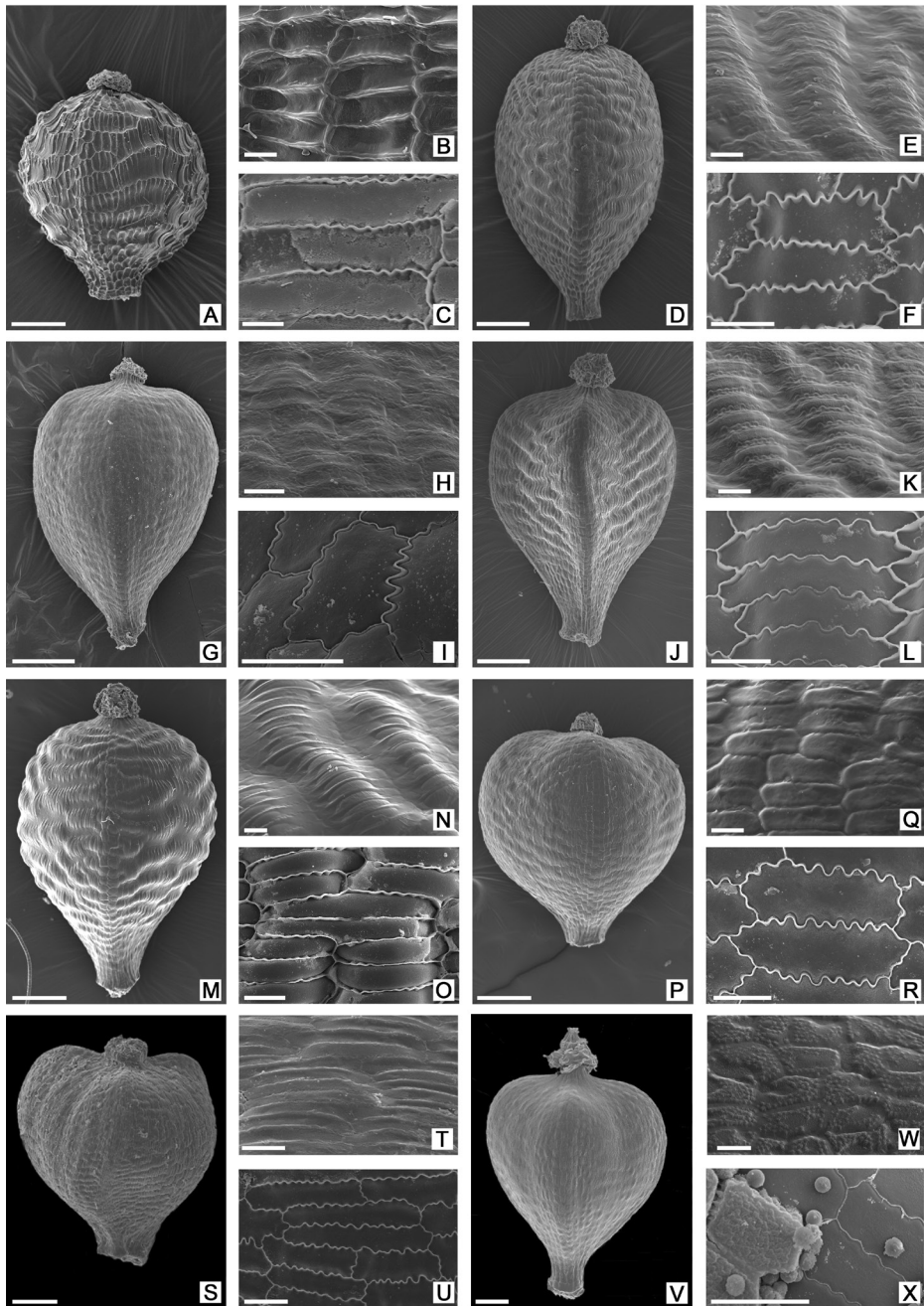


Fig. 2. Frutos de *Bulbostylis* grupo 1, microfotografías con MEB, en cada especie se ilustra fruto completo (izquierda), detalle de la pared periclinal externa sin tratamiento (arriba) y detalle del epicarpio donde el tratamiento químico eliminó la pared periclinal externa (abajo). Subgrupo 1a: A-C: *B. funckii*. Subgrupo 1b: D-F: *B. aspera*. G-I: *B. brevifolia*. J-L: *B. contracta*. M-O: *B. rugosa*. P-R: *B. scabra*. S-U: *B. paradoxa*. V-X: *B. communis*, X: detalle donde se eliminó parcialmente la pared externa del epicarpio. Escalas= A,D,G,J,M,P,S: 200 μ m, restantes: 25 μ m.

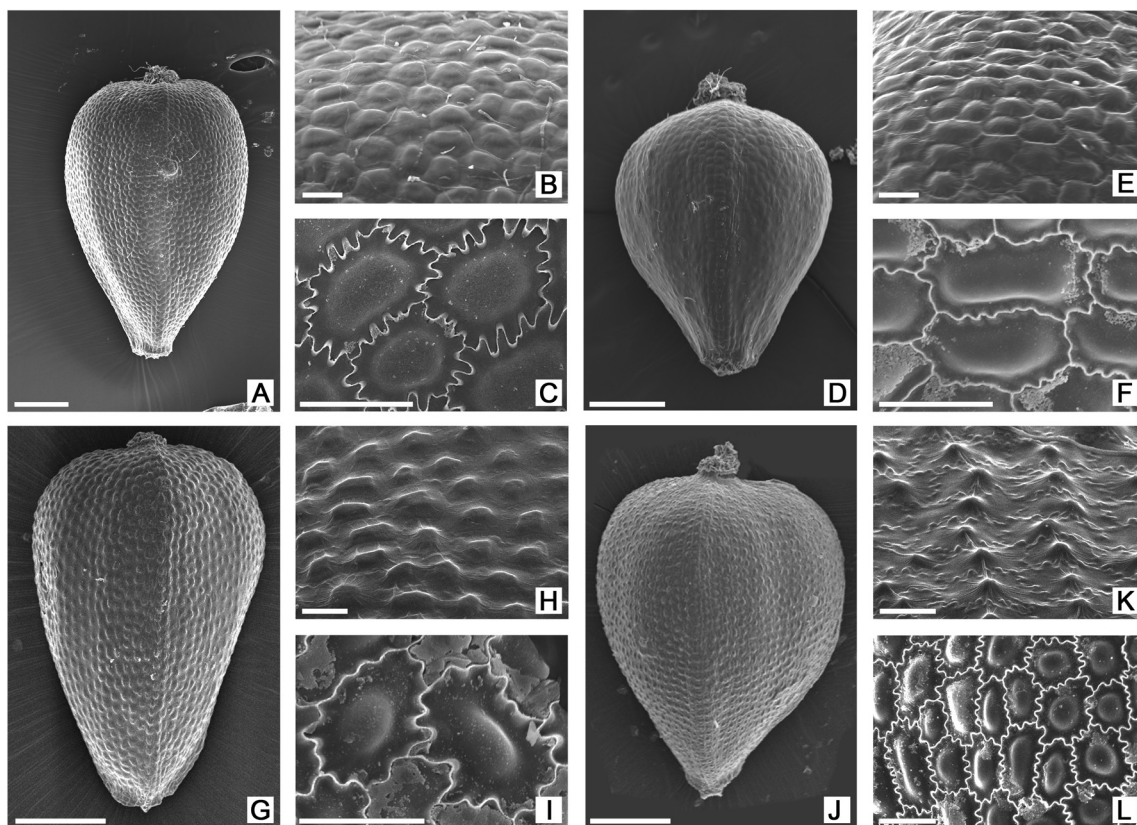


Fig. 3. Frutos de *Bulbostylis* grupo 2, microfotografías con MEB, en cada especie se ilustra fruto completo (izquierda), detalle de la pared periclinal externa sin tratamiento (arriba) y detalle del epicarpio donde el tratamiento químico eliminó la pared periclinal externa (abajo). A-C: *B. amambayensis*. D-F: *B. jacobinae*. G-I: *B. junciformis*. J-L: *B. sphaerocephala*. Escalas= A,D,G,J: 200 μ m, restantes: 25 μ m.

Relieve de los límites celulares: en vista superficial, la unión de las paredes periclinales de células vecinas (sin tratamiento de remoción de pared periclinal externa) pueden ser imperceptibles, lisos, elevados o acanalados (Figs. 2-4).

Curvatura de la pared periclinal externa: con una amplia variación desde cóncava a plana, convexa o con formas o proyecciones especiales como cónicas o mamiliformes. En *Bulbostylis*, esta pared está influenciada además por la estructura tridimensional de toda la célula del epicarpio; por ejemplo los cuerpos de sílice que impregnan la pared tangencial interna alcanzan la pared externa y determinan la existencia de verdaderas papilas de formas hemisféricas (Fig. 3) a cónicas (Fig. 4). En otros casos, las excrescencias de la pared de

las esclereidas del mesocarpio forman crestas u ondulaciones, el epicarpio se adapta a este diseño y por lo tanto se aprecia en vista superficial (Fig. 1 K-P, 2).

Escultura secundaria: representada por la micro-ornamentación de la pared externa de las células, cuyo origen puede ser inclusiones cuticulares o subcuticulares, presencia de paredes con engrosamientos diferenciales o variaciones superficiales producto de contenidos celulares (granos de almidón por ejemplo, Fig. 2 U).

Escultura terciaria: de acuerdo a Barthlott (1981) está determinado por la presencia de secreciones epicuticulares. Esta escultura sólo fue encontrada en *B. sphaerolepis* donde se observan pequeños granos de cera (Fig. 4 H*).

Tabla 1. Análisis exomorfológico de los frutos maduros.

Taxones	Color	Forma	Medida (mm)	Forma del estilopodio
<i>B. amambayensis</i>	plomizo	obovoide	1-1,5 x ±0,84	umbonado
<i>B. aspera</i>	fumoso	oblongo a obovoide	1,2-1,3 x 0,75	plano
<i>B. brevifolia</i>	álbido	obovoide	0,75-1,2 x 0,6-0,7	cónico
<i>B. communis</i>	álbido	piriforme	0,75-1 x 0,75	cónico
<i>B. consanguinea</i>	pardo	obcónico	1,25 x 0,75	trilobado
<i>B. contracta</i>	álbido	obcónico	1 x 0,75	verruciforme
<i>B. funckii</i>	pardo	redondeado	0,75-0,8 x 0,65	umbonado
<i>B. guaglianoneae</i>	cinéreo	oblongo a obovoide	1,25-1,5 x 0,8-1	umbonado
<i>B. hirtella</i>	pardo	obcónico	0,75-0,8 x 0,75	verruciforme
<i>B. jacobinae</i>	pardo	obcónico	0,6-0,9 x 0,5	cónico
<i>B. junciformis</i>	ocráceo	obcónico	0,8-1 x 0,5-0,6	plano
<i>B. juncoides</i>	pardo	obovoide	1-1,2 x 0,8-1	plano
<i>B. loefgrenii</i>	álbido	obovoide	1,5-1,8 x 0,8-1,2	cilíndrico
<i>B. paradoxa</i>	negro azabache	cordiforme	1,2-1,8 x 1-1,4	trilobado
<i>B. rugosa</i>	fumoso	obovoide	1-1,4 x 1	cilíndrico
<i>B. scabra</i>	ocráceo	cordiforme a obovide	0,75-1 x 0,8-1	umbonado
<i>B. sphaerocephala</i>	plomizo	obcónico	0,75-1 x 0,50-0,75	verruciforme
<i>B. sphaerolepis</i>	pardo	obovoide	1-1,5 x 1-1,25	cilíndrico
<i>B. stenocarpa</i>	plomizo	oblongo	1,1-1,3 x 0,5-0,8	umbonado
<i>B. subtilis</i>	ocráceo	obovoide	1-1,25 x 0,75	plano

En la tabla 2 se listan los caracteres de la macroescultura, escultura primaria (discriminando los microcaracteres evaluados) y la escultura secundaria de cada especie analizada.

Microanálisis de los frutos mediante EDX/MEB

En los espectros de las especies de *Bulbostylis* aquí estudiadas se observa que el sílice está siempre acompañado por otros elementos químicos que son: carbono, oxígeno, potasio (Fig. 5). Además se encontraron presentes y en forma variable elementos como: magnesio (*B. aspera*, *B. brevifolia*, *B. contracta*, *B. guaglianoneae*, *B. junciformis*, *B. loefgrenii* y *B. sphaerolepis*); sodio (*B. aspera*, *B. brevifolia*, *B. hirtella* y *B. scabra*) y calcio (*B. amambayensis*, *B. funckii* y *B. stenocarpa*).

La distribución del silicio en la superficie del fruto resultó uniforme y no se encontraron diferencias entre los frutos que forman cuerpos de

sílice y los que no lo forman (Fig. 6). *Bulbostylis scabra* (Fig. 6 K-L) tiene un fruto que no forma cuerpos de sílice y cuya microtopografía posee ondulaciones horizontales y células alargadas, en el mapeo detallado se puede ver que la distribución del sílice acompaña a esta superficie.

DISCUSIÓN

Los frutos de *Bulbostylis* son en su mayoría obovoides y obcónicos, y en menor medida cordiformes, oblongos o piriformes. El color de los frutos maduros varía en los tonos de grises, negro, marrón siendo muy raro el blanco, coincidiendo con Lye (2000) que establece estos colores como los más frecuentes en los frutos de las Cyperaceae. Todos los aquenios estudiados son trígonos, el tamaño va desde 0,6 a 1,5 mm de largo x 0,5 a 1,4 mm de ancho. El estilopodio adopta una gran variabilidad de formas:

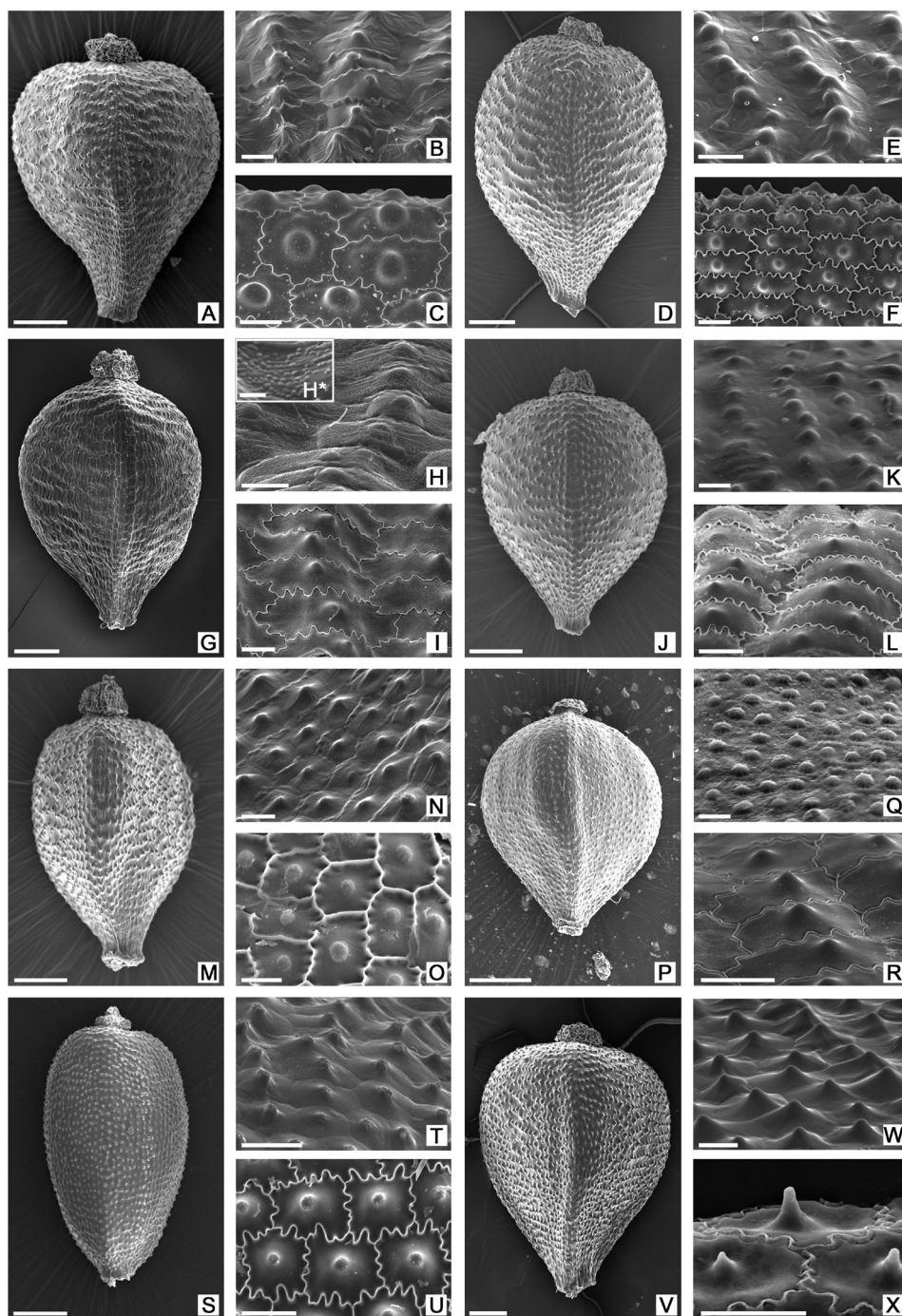


Fig. 4. Frutos de *Bulbostylis* grupo 3, microfotografías con MEB, en cada especie se ilustra fruto completo (izquierda), detalle de la pared periclinal externa sin tratamiento (arriba) y detalle del epicarpio donde el tratamiento químico eliminó la pared periclinal externa (abajo). Subgrupo 3a: A-C: *B. consanguinea*. D-F: *B. juncooides*. G-I: *B. sphaerolepis*, H*: detalle de las ceras epicuticulares. J-L: *B. subtilis*. Subgrupo 3b: M-O: *B. guaglianoneae*. P-R: *B. hirtella*. S-U: *B. stenocarpa*. Subgrupo 3c: V-X: *B. loefgrenii*. Escalas= A,D,G,J,M,P,S: 200 μ m, H*: 5 μ m, restantes: 25 μ m.

Tabla 2. Descripción estructural de los aquenios.

Grupo	Taxones	Macroescultura	Escultura primaria				Escultura 2º
			Paredes externas	Paredes anticlinales internas	Paredes periclinales relieve	Paredes periclinales curvatura	
1a	<i>B. funckii</i>	ondulaciones transversales muy marcadas, crestas largas	contorno alargadas	ondas "C"	elevado	cóncava	s/cuerpos débilmente estriada
1b	<i>B. aspera</i>	ondulaciones horizontales muy marcadas, crestas cortas	alargadas	ondas "V"	elevado	lisa	s/cuerpos lisa
1b	<i>B. brevifolia</i>	ondulaciones horizontales suaves	alargadas	ondas "C"	s/relieve	±plana	s/cuerpos granulosa
1b	<i>B. communis</i>	casi lisa o con ondulaciones suaves	alargadas a poligonales	ondas "C, V"	levemente hundido	±plana	s/cuerpos granulosa
1b	<i>B. contracta</i>	ondas horizontales muy marcadas,	alargadas	ondas "C"	levemente elevado	±plana	s/cuerpos estriada
1b	<i>B. scabra</i>	ondas horizontales algo prominentes	alargadas	ondas "C, V"	s/relieve	±plana	s/cuerpos lisa
1b	<i>B. paradoxa</i>	suavemente rugosa	alargadas	ondas "C"	s/relieve	±plana	s/cuerpos lisa
1b	<i>B. rugosa</i>	marcadamente rugosa	alargadas	ondas "V"	levemente marcado	convexa	s/cuerpos estriada
2	<i>B. amambayensis</i>	superficie reticulada	poligonales a ± isodiamétricas	ondas "V, Ω"	hundido	convexa	hemisféricos estriada
2	<i>B. jacobinae</i>	superficie punteada	poligonales a ±isodiamétricas	ondas "V, Ω"	Bien demarcado	convexa	± hemisféricos estriada
2	<i>B. junciformis</i>	superficie punteada	poligonales a ±isodiamétricas	ondas "V, Ω"	Bien demarcado	convexa	hemisféricos estriada
2	<i>B. sphaerocephala</i>	superficie punteada	cuadrangulares a ± isodiamétricas	ondas "V, Ω"	liso	convexa	hemisféricos ausente
3a	<i>B. consanguinea</i>	ondas horizontales	alargadas	ondas "C"	elevado, crestado	convexo	cónicos de ápice redondeado estriada
3a	<i>B. juncoides</i>	superficie con ondas horizontales	alargadas	ondas "V"	hundido	cónico	ausente
3a	<i>B. sphaerolepis</i>	coliculada-estriada	alargadas	ondas "V"	hundido	convexo	cónicos de ápice redondeado micro-granular
3b	<i>B. subtilis</i>	ondulaciones horizontales cortas	alargadas	ondas "Q"	hundido	plano	ausente
3b	<i>B. guaglianoneae</i>	protuberancias, formando líneas horizontales	poligonales	ondas "C"	elevado, crestado	±plana	estriada
3b	<i>B. hirtella</i>	punteada sin formar ondas horizontales	poligonales	ondas "C, Ω"	elevado	plano	estriada
3b	<i>B. stenocarpa</i>	verrucosa, sin formar ondulaciones horizontales	cuadrangulares a rectangulares cortas	ondas "V, Ω"	s/relieve	±plana	ausente
3c	<i>B. loefgrenii</i>	superficie suavemente punteada	alargadas	ondas "Q"	liso	cónica	cónicos de ápice agudo estriada

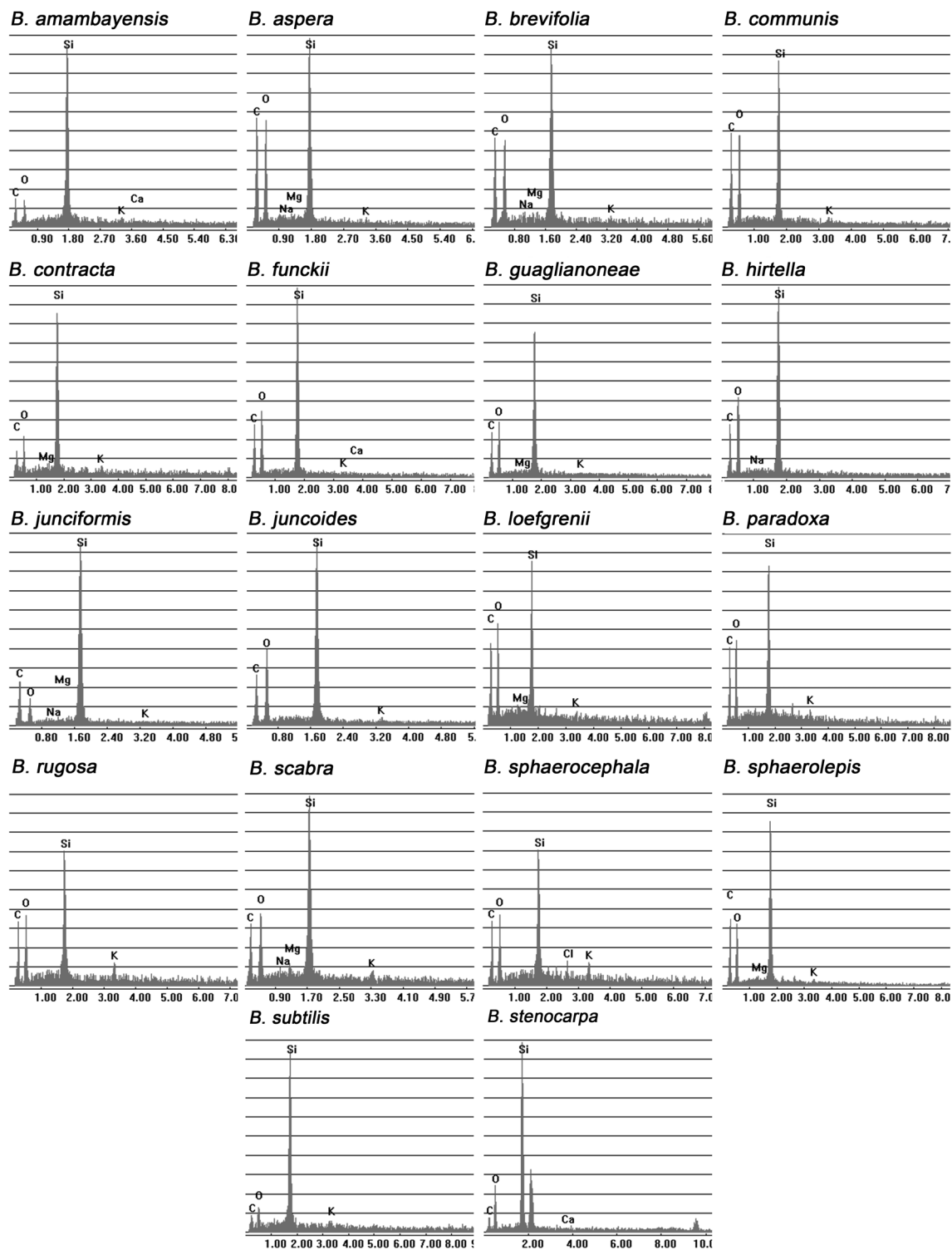


Fig. 5. Microanálisis de los frutos de *Bulbostylis* mediante EDX/MEB.

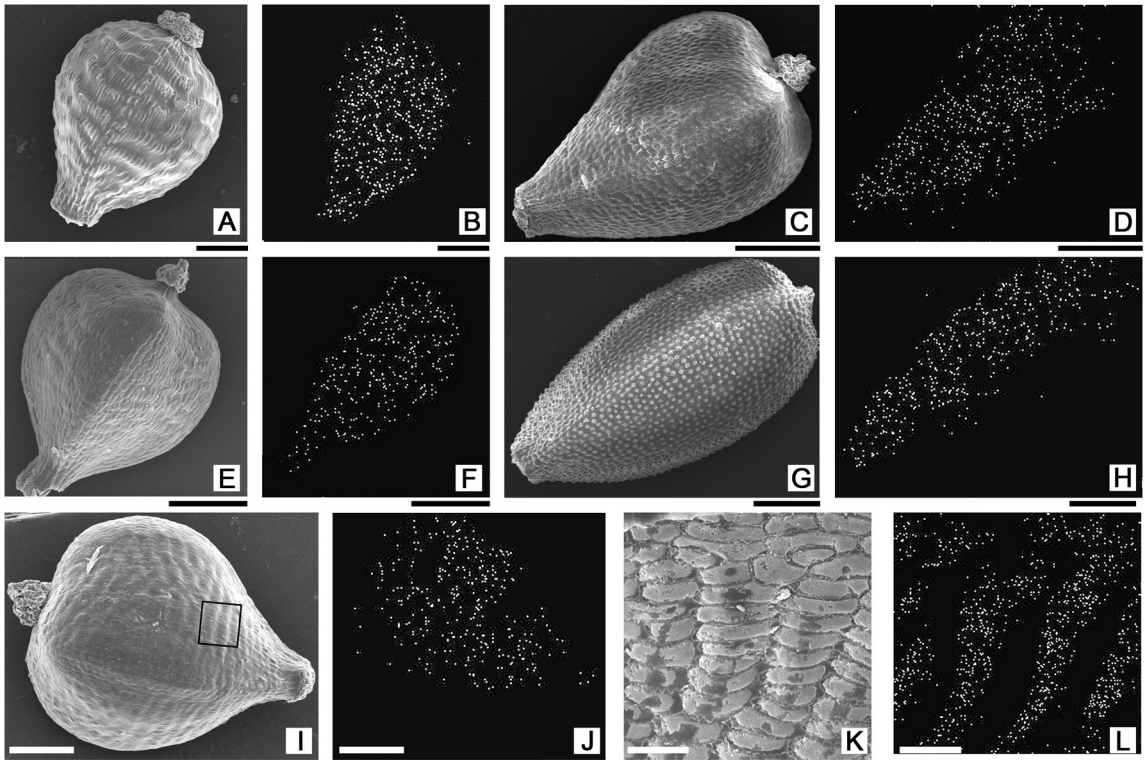


Fig. 6. Mapeo de puntos mediante el estudio correlativo EDX/MEB mostrando la localización espacial del silicio presente en una de las caras del achenio. A-B: *B. funckii*; C-D: *B. sphaerocephala*; E-F: *B. communis*; G-H: *B. stenocarpa*; I-L: *B. scabra*; A-J: mapeo de fruto completo, K-L: detalle del sector indicado en I. Escalas= A-J: 200 μ m, K-L: 50 μ m.

umbonado, plano, cónico, trilobado, verruciforme y cilíndrico.

Barthlott (1981) analizó con MEB caracteres de la epidermis completa de cerca de 5000 especies, incluyendo la de las semillas y estableció la significancia de este análisis en estudios taxonómicos, aunque no especifica su uso en la descripción de frutos en particular. Este autor agrupó los caracteres epidérmicos en cuatro categorías, tres de las cuales fueron denominadas con el término *esculturas*, y listadas de primaria a terciaria, visibles con MEB y en niveles crecientes de magnificación.

La primera categoría de Barthlott (1981) fue indicada como “celular patterns” e incluye la distribución de diversos tipos celulares en la epidermis (como presencia de idioblastos, tricomas o estomas) y visible usualmente a bajos aumentos. En el presente estudio se amplió esta categoría y se la ubica en

un nivel superior de ordenación que se denominó *macroescultura*, en el cual se incluye, además de los arreglos de células de la epidermis, a las distintas capas subepidérmicas que participan y determinan la topografía general de la superficie.

Grupos infragenéricos de Bulbostylis según las esculturas del fruto:

GRUPO 1: Frutos sin cuerpos de sílice (Fig. 2). Si bien el análisis EDX/MEB muestra la presencia de este elemento en todas las especies analizadas, se agrupó en esta categoría a los frutos de *Bulbostylis* caracterizados porque el sílice no forma cuerpos o estructuras definidas. El epicarpio posee células alargadas, siempre en relación al eje mayor que coincide con el eje longitudinal del fruto. Posee macroescultura con crestas u ondulaciones horizontales determinadas por las esclereidas del mesocarpio (Fig. 1 A).

Este grupo está formado por siete especies, que se pueden diferenciar en dos subgrupos:

Subgrupo 1a: En este subgrupo el epicarpio se caracteriza por sus paredes anticlinales externas lisas. Plataforma cóncava formada por la depresión de la pared periclinal externa del epicarpio y relieve elevado de las paredes anticlinales (Fig. 2 A-C). Solo *B. funkii* presenta este subtipo.

Subgrupo 1b: Las restantes especies: *B. aspera*, *B. brevifolia*, *B. communis*, *B. contracta*, *B. paradoxa* y *B. scabra*, se diferencian por la pared periclinal externa convexa (Fig. 2 D-V).

GRUPO 2. Frutos con sílice en forma de cuerpos globosos que ocupan casi toda la célula epidérmica, dejando un borde deprimido que acompaña al contorno de la célula. Estos silicofitolitos tienen forma redondeada o rectangular de bordes redondeados, dependiendo de la forma de la célula donde se encuentran, la superficie externa del cuerpo de sílice es convexa (Figs. 1 E, 3). La macroescultura es punteada, característica determinada por los silicofitolitos; las células del epicarpio tienen forma variable entre oblongas y más o menos isodiamétricas, pared anticlinales externas lisas a suavemente curvadas, a excepción de *B. junciformis* que se caracteriza por tener estas paredes en zig-zag y paredes anticlinales de relieve elevado.

GRUPO 3. Frutos con silicofitolitos conoidales (Fig. 4), la forma del ápice determina dos subgrupos:

Subgrupo 3a: la macroescultura posee ondulaciones transversales cortas y suaves, donde además cada célula tiene un silicofitolito en forma de cono, con ápice redondeado evidenciado en la cresta de la célula (Fig. 1 F, I). Células del epicarpio predominantemente alargadas. Dentro de este subgrupo se destacan *B. subtilis* y *B. consanguinea* porque al retirar la pared periclinal externa los silicofitolitos tienen ápices múltiples en algunas células (Fig. 1 G, J).

Subgrupo 3b: solo *B. loefgrenii* se encuentra en este subgrupo. Esta especie presenta superficie suavemente punteada, causada por silicofitolitos de ápice agudo (Fig. 1 H).

En *Bulbostylis* el diseño de la superficie del fruto es resultado de la interacción entre la epidermis o epicarpio y mesocarpio. Las células epidérmicas influyen en la superficie a través

de la presencia y forma de los silicofitolitos, mientras que las esclereidas determinan la presencia de ondulaciones o crestas. Esta topografía es visible bajo lupa y usualmente es referida en las descripciones taxonómicas del género *Bulbostylis* bajo denominaciones como punteada, reticulada, verrugosa, tuberculada o con protuberancias puntiformes (Goetghebeur, 1984; Goetghebeur & Coudijzer, 1984; Prata *et al.* 2008; López, 2012), en estos casos se deben a la presencia de sílice en forma de cuerpos conspicuos o silicofitolitos; en otros casos los frutos se describen como rugosos, con ondas o líneas transversales (Goetghebeur, 1984; Goetghebeur & Coudijzer, 1984; Prata *et al.* 2008; López, 2012), los estudios realizados aquí demostraron que estos tipos de pericarpio son el resultado de epidermis más las esclereidas del mesocarpio.

En las Ciperáceas y otras familias con aquenios es común el análisis estrictamente superficial, dada la importancia taxonómica del carácter y su facilidad de observación (Schuyler, 1971; Toivonen & Timonen, 1976; Raymond & Wujek 1983; Denton 1983; Goetghebeur, 1984; Goetghebeur & Coudijzer, 1984; Wujek & Menapace, 1986; Menapace & Wujek, 1987; Waterway, 1990; Menapace, 1991 y 1993; Wujek *et al.* 1994; López & Matthei, 1995; Menapace *et al.* 2003; Wujek *et al.* 2001; Prata *et al.* 2008). Si bien es cierto que en la mayoría de los casos el estudio de frutos o semillas se restringe a análisis superficiales con lupa o MEB y por lo tanto caracteres exclusivamente epidérmicos, a partir del presente estudio se destaca la importancia de un análisis anatómico y estructural que evidencie el verdadero origen del diseño superficialmente visible. Hay numerosos ejemplos en la bibliografía donde la interacción de estratos dérmicos y subepidérmicos es responsable del diseño de la superficie, no solo de frutos sino también en semillas, por ejemplo en las Turneráceas las semillas se describen como areoladas o crestadas y a través del estudio anatómico se revela que se debe a la relación o influencia recíproca entre las células de la exotesta y las esclereidas de la endotesta (Gonzalez & Arbo, 2013).

La aplicabilidad de la clasificación ampliada en este trabajo se transfiere no solo al análisis de frutos secos sino también al de las semillas, donde es importante considerar la interacción entre los diversos estratos.

Prata *et al.* (2008) analizaron la superficie del aquenio de 38 especies de *Bulbostylis* y determinaron tres patrones de ornamentación: uno sin cuerpos de sílice, denominado reticulado, donde el retículo se determina por las células epidérmicas; y dos diseños con cuerpos de sílice en toda la superficie: tuberculado (sin líneas transversales), y transversalmente rugoso (con arrugas más o menos prominentes). Este último patrón, según los autores (Prata *et al.* 2008) se debe a la organización de las células epidérmicas de cada especie; dato que se corrige con el presente estudio, donde se evidencia que el mesocarpo también participa en la formación de las crestas o arrugas.

La estructura primaria queda determinada básicamente por la forma de la epidermis en vista superficial y depende de una serie de caracteres celulares (contorno, curvatura de paredes anticlinales y periclinal externa, y relieve de los límites celulares), a los que este estudio suma la presencia y forma de los silicofitolitos.

La forma de las células epidérmicas puede ser variable: más o menos isodiamétricas, poligonales o alargadas, pero siempre el lado mayor está dispuesto paralelo al eje mayor del fruto, confirmando lo propuesto por Goetghebeur (1984) y Goetghebeur & Coudijzer (1985), que dice "el carácter más importante para separar *Bulbostylis* de *Fimbristylis* es la superficie del fruto, en *Fimbristylis* las células se ubican con su eje mayor perpendicular al eje del fruto, mientras que en *Bulbostylis* están en forma paralela".

La pared anticlinal de las células epidérmicas presenta ondulación variable, en varias especies es lisa, carácter predominante en el grupo 1. Prata *et al.* (2008) mencionan que la pared en la mayoría de los casos es recta, pero el análisis que realizó es en vista superficial, no se extrajo la pared periclinal externa y sinuosa solo en siete especies, 4 de las cuales fueron estudiadas en el presente trabajo y descritas como suavemente curvadas. Considerando la subjetividad de términos tales como curvadas o sinuosas, se plantea el uso de la terminología propuesta por Stace (1965) para epidermis pero usando descriptores para las curvas: "()", "C", "V" y "Ω", de mayor claridad.

Bulbostylis funckii es la única especie donde sin pre-tratamientos se aprecia la pared periclinal interna del epicarpo, ya que la externa es cóncava; en la mayoría de las restantes especies la pared

periclinal externa es plana a convexa y su forma final dependerá de la presencia y forma del silicofitolito. El tratamiento de extracción de la pared externa de la epidermis, permitió apreciar que estas células presentan sus paredes anticlinales internas con mayor grado de ondulación que la cara externa. La escultura terciaria depende de secreciones epicuticulares, ausente en casi todas las especies aquí estudiadas de *Bulbostylis*, excepto por los gránulos de cera en *B. sphaerolepis*.

El sílice de las plantas proviene del ácido silícico que ingresa con el agua y al final de la corriente transpiratoria, cuando el agua se evapora, precipita como silicofitolitos (Raven, 1983; Canny, 1994; Datnoff *et al.*, 2001). El lugar de depósito de sílice es variable, en los pastos y ciperáceas típicamente se encuentra a nivel de la epidermis (Twiss *et al.*, 1969); a nivel celular puede depositarse en tres lugares: incrustado en las paredes celulares, en el lumen o en los espacios intercelulares (Geis, 1978; Prychid *et al.*, 2004). Los silicofitolitos están compuestos principalmente de dióxido de Sílice (SiO₂) con impurezas de otros elementos como Al, Fe, Mn, P, Cu, N y C (Eksambekar, 2009), algunos de estos elementos fueron registrados con el microanálisis con EDX/MEB realizado en *Bulbostylis*. Al mapear el silicio se pudo comprobar que este elemento se encuentra en toda la superficie de los frutos de *Bulbostylis* y que no hay diferencias en su distribución con respecto a la presencia o ausencia de cuerpos de sílice.

La importancia de los silicofitolitos en la familia Cyperaceae ha llevado a numerosos trabajos y múltiples clasificaciones (Metcalfe, 1971, Twiss *et al.*, 1969; Piperno, 1988), siendo la más actual el Código Internacional de Nomenclatura de Fitolitos (ICPN WORKING GROUP, 2005). Por su claridad se destaca particularmente las revisiones realizadas por Ollendorf (1992) y Cristobal (1995), en la que los silicofitolitos de las Ciperáceas poseen forma característica de conos de ápice agudo o redondeados, psilados o de superficie lisa, con ápices individuales o múltiples.

En el estudio más reciente, Prata *et al.* (2008) describen los silicofitolitos con forma piramidal, cónica o globosa, este último presente solo en *B. jacobinae* y *B. edwalliana* (Boeck.) Prata & M.G. López. En las 20 especies analizadas en el presente trabajo se encontraron tres formas de silicofitolitos: la particular forma de cono con superficie lisa

previamente descripta por Piperno (1988) con las dos variantes enumeradas por Ollendorf (1992): conos de ápice puntiagudo (exclusiva de *B. loefgrenii*) y conos de ápice redondeados (todas las especies restantes del grupo 3); además se describe un tercer tipo de silicofitolito, de superficie convexa o globoso, característica que concentra a las especies del grupo 2.

CONCLUSIONES

Por medio de la espectrometría de rayos-x se confirmó la presencia de sílice en la pared de todos los frutos de *Bulbostylis* analizados y mediante el análisis morfoanatómico se determinó que este elemento puede o no formar cuerpos de sílice, los cuales tienen las formas típicas para la familia: silicofitolitos globosos, en forma de conos con ápices únicos, redondeados o agudos, y ocasionalmente con ápices múltiples. La presencia o ausencia de silicofitolitos y su forma tienen valor taxonómico en el género, siendo este uno de los caracteres que permitió reunir a las especies estudiadas en tres grupos principales. El uso de caracteres micromorfológicos como la forma, superficie y estructura del epicarpio se reconocen como importantes en el diagnóstico de las especies de *Bulbostylis* estudiadas, y se complementan con el análisis profundo de la estructura de mesocarpio y endocarpio, los cuales influyen en el diseño de la superficie.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Dra. Cristina Salgado y a la Ing. Agr. Noelia Rivaldi por su colaboración en la preparación de algunos materiales para la observación en MEB y a la Universidad Nacional del Nordeste por el apoyo económico en la realización del presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

ARAÚJO, A. C. & H. M. LONGHI-WAGNER. 1997. Anatomía foliar y micromorfología do fruto na taxonomía de *Cyperus* L. (Cyperaceae). *Iheringia Bot.* 48: 103–120.

BARTHLOTT, W. 1981. Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. *Nor. J. Bot.* 1: 345–355.

BARTHLOTT W., C. NEINHUIS, D. CUTLER, F. DITSCH, I. MEUSEL, I. THEISEN & H. WILHELMI. 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Bot. J. Linn. Soc.* 126: 237–260.

BERTOLDI DE POMAR, H. 1975. Los Silicofitolitos: sinopsis de su conocimiento. *Darwiniana* 19: 173–355.

BROWNING, J., K. D. GORDON-GRAY & S. G. SMITH. 1997. Achene morphology and pericarp anatomy of the type specimens of the Australian and New Zealand species of *Bolboschoenus* (Cyperaceae). *Austral. Syst. Bot.* 10: 49–58.

CANNY M. J. 1994. What becomes of the transpiration stream?. *New Phytologist* 114: 341–368.

CRISTOBAL R. M. A. 1995. Nuevo sistema de análisis descriptivo para fitolitos de sílice. *Pyrenae: revista de prehistòria i antiguitat de la Mediterrània Occidental* 26: 19–38.

DATNOFFL, E., G. H. SNYDER & G. HKORNDÖRFER. 2001. *Silicon in agriculture*. Studies in plant science 8. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.

DENTON, M. F. 1983. Anatomical studies of the Luzulae group of *Cyperus* (Cyperaceae). *Syst. Bot.* 8: 250–262.

EKSAMBEKAR S. 2009. Review of Phytolith Research: Scope and Applications. *Korean J. Quaternary Res.* 23: 1–12

GEIS, J. W. 1978. Biogenic opal in three species of Gramineae. *Ann. Bot.* 42: 1119–1129.

GOETGHEBEUR, P. 1984. Studies in Cyperaceae 4. New species and a new combination in Central African *Bulbostylis*. *Bull. Jard. Bot. Natl. Belg.* 54: 91–104.

GOETGHEBEUR, P. & J. COUDIJZER. 1984. Studies in Cyperaceae 4. New species and a new combination in Central Africa. *Bull. Jard. Bot. Natl. Belg.* 54: 91–104.

GOETGHEBEUR, P. & J. COUDIJZER. 1985. Studies in Cyperaceae 5. The genus *Bulbostylis* in Central Africa. *Bull. Jard. Bot. Natl. Belg.* 55: 207–259.

GONZALEZ, A. M. & M. G. LÓPEZ. 2010. Development and morphology of the gynoeceum and nutlet in two South-American *Bulbostylis* (Cyperaceae) species. *Flora* 205: 211–220.

GONZALEZ A.M. & M.M. ARBO. 2013. Anatomía y ontogenia de las semillas en *Turnera* y *Piriqueta*. *Botanical Sciences* 91: 1–18.

HEFLER, S. M. & H. M. LONGHI-WAGNER. 2008. Análise da morfologia do fruto em espécies de *Cyperus* L. subg. *Cyperus* –Cyperaceae. *Acta Bot. Bras.* 22: 637–651.

M. G. López y A. M. Gonzalez - Frutos de *Bulbostylis* en las especies de América austral

- ICPN WORKING GROUP: M. MADELLA, A. ALEXANDRE & T. BALL. 2005. International Code for Phytolith Nomenclature 1.0. *Ann. Bot.* 96: 253–260.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Co., New York.
- LINDLEY, J. 1951. *Glosología o de los términos usados en botánica*. Fundación Miguel Lillo (San Miguel de Tucuman), Miscelánea 15.
- LÓPEZ, M. G. 2012. *Citología, morfología y taxonomía del género Bulbostylis (Cyperaceae) para América Austral*. Tesis. Universidad Nacional del Nordeste- Área Recursos Naturales- Facultad de Ciencias Agrarias. Corrientes. Inédita.
- LÓPEZ, P. S. & O. J. MATTHEI. 1995. Micromorfología del aquenio en especies del género *Cyperus* L. (Cyperaceae) Chile. *Gayana Bot.* 52: 67–75.
- LYE, K. A. 1983. Studies in African Cyperaceae 25. New taxa and combinations in *Cyperus* L. *Nordic. J. Bot.* 3: 213–232.
- LYE, K. A. 2000. Achene structure and function in Cyperaceae. In: WILSON, K.L. & D. A. MORRISON (eds.), *Monocots: Systematics and Evolution*. pp. 615–628. CSIRO. Melbourne.
- MEHRA, P. N. & O. P. SHARMA. 1965. Epidermal silica cells in the Cyperaceae. *Bot. Gaz.* 126: 53–58.
- MENAPACE, F. J. 1991. A preliminary micromorphological analysis of *Eleocharis* (Cyperaceae) achenes for systematic potential. *Can. J. Bot.* 69: 1533–1541.
- MENAPACE, F. J. 1993. Achene micro-morphology as a systematic aid to the series placement of Svenson's undesigned *Eleocharis* (Cyperaceae) species. *Rhodora* 95: 214–224.
- MENAPACE, F. J. 2003. Achene micromorphology of some Indian Cyperaceae V. Achene micromorphology as a possible systematic aid to the taxonomic recognition of *Fimbristylis* sections. *Bull. Bot. Surv. India* 45: 21–28.
- MENAPACE, F. J. & D. E. WUJEK. 1987. The systematic significance of achene micromorphology in *Carex retrorsa* (Cyperaceae). *Brittonia* 39: 278–283.
- METCALFE, C. R. 1971. *Anatomy of the Monocotyledons V. Cyperaceae*. Oxford. University Press.
- OLLENDORF, A. L. 1992. Toward a Classification scheme of sedge (Cyperaceae) phytoliths. In: RAPP, G. Jr. & S. C. MULHOLLAND (eds.), *Phytolith systematics. Emerging issues*, Advances in Archaeological and Museum Science, Vol. 1, pp. 91–111. Plenum Press, London, New York.
- PARR J. F., C. J. LENTFER & W. E. BOYD. 2001. A comparative analysis of wet and dry ashing techniques for the extraction of phytoliths from plant material. *J. Archaeol. Sci.* 28: 875–886.
- PIPERNO, D. R. 1988. *Phytolith analysis: an archaeological and geological perspective*. Academic Press, San Diego.
- PRATA, A. P., W. W. THOMAS & M. D. L. WANDERLEY. 2008. Micromorfologia da superfície do aquênio em *Bulbostylis* Kunth (Cyperaceae). *Revista Brasil. Bot.* 31: 587–596.
- PRYCHID, C. J., RUDALL, P. J. & M. GREGORY. 2004. Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. *Bot. Rev.* 69:377–440.
- RAGONESE, A. M., E. R. GUAGLIANONE & C. DIZEO DE STRITTMATTER. 1984. Desarrollo del pericarpio con cuerpos de sílice de dos especies de *Rhynchospora* Vahl (Cyperaceae). *Darwiniana* 25: 27–41.
- RAVEN, J. A. 1983. The transport and function of silicon in plants. *Biol. Rev.* 58: 179–207.
- RAYMOND, C. T. & D. E. WUJEK. 1983. Scanning electron microscopy as an aid to taxonomy of sedges (Cyperaceae: *Carex*). *Micron Microscop. Acta* 14: 271–272.
- SCHUYLER, A. 1971. Scanning electron microscopy of achene epidermis in species of *Scirpeae* and related genera. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia* 123: 29–52.
- STACE, C. A. 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Bot.)* 4: 1–78.
- STANDLEY, L. 1987. Anatomical studies of *Carex cuchumatensis*, *C. decidua*, and *C. hermannii* (Cyperaceae) and comparisons with North American taxa of the *C. acuta* complex. *Brittonia* 39: 11–19.
- STANDLEY, L. 1990. Anatomical aspects of the taxonomy of sedges (*Carex*, Cyperaceae). *Canad. J. Bot.* 68: 1449–1456.
- STRONG, M. T. 2006. Taxonomy and distribution of *Rhynchospora* (Cyperaceae) in the Guianas, South America. *Contrib. U.S. Natl. Herb.* 53: 1–225.
- TOIVONEN, H. & T. TIMONEN. 1976. Perigynium and achene epidermis in some species of *Carex*, subg. *Vignea* (Cyperaceae) studied by scanning electron microscopy. *Ann. Bot. Fenn.* 13: 49–59.
- TWISS, P. C., E. SUESS & R.M. SMITH 1969, Morphological classification of grass phytoliths, *Soil Science Society of America, Proceedings* 33: 109–115.
- WALTER, K. S. 1975. A preliminary study of the achene epidermis of certain *Carex* (Cyperaceae) using scanning electron microscopy. *Michigan Botanist* 14: 67–72.
- WATERWAY, M. J. 1990. Systematic implications of achene micromorphology in *Carex* section *Hymenochlaenae* (Cyperaceae). *Can. J. Bot.* 68: 630–639.
- WUJEK, D. E. & F. J. MENAPACE. 1986. Taxonomy of *Carex* section *Folliculatae* using achene morphology. *Rhodora* 88: 399–403.

WUJEK, D. E.; F. J. MENAPACE; E. A. DUFFIELD & B. H. M. NIJALINGAPPA. 2001. Achene micromorphology of some Indian Cyperaceae. IV Achene micromorphology of selected Indian *Scleria*. In: CHAUCHAN, S.V. & S. CHATURVEDI (eds.), Botanical Essays: Tribute to Professor Bahadur Singh., pp. 218–228. Printwell Publishers, Jaipur, India.

WUJEK, D. E., B. H. M. NIJALINGAPPA & S. M. GARLITZ. 1994. Achene micromorphology of some Indian Cyperaceae. II *Fimbristylis*. *Asian J. Pl. Sci.* 6: 1–17.

Recibido el 29 de junio de 2016, aceptado el 23 de agosto de 2016.

Anexo I: Ejemplares examinados.

- B. amambayensis:** PARAGUAY. *Dpto. San Pedro:* Rancho Laguna Blanca. 17-I-2002, Gonzales Parini & López 800. BRASIL. *Edo. Mato Grosso do Sul: Mun. Iguatemi,* About 5 km E of Iguatemi, fda. Zoller, 9-II-1994, Pedersen 15984.
- B. aspera:** ARGENTINA. *Prov. Corrientes: Dpto. Santo Tomé,* Ea. Timbó, 1-II-1983, Schinini *et al.* 23580. *Prov. Misiones: Dpto. San Ignacio,* Colonia Chica, 24-IV-1948, Schwarz 5867. BRASIL. *Edo. Paraná: Mun. Ponta Grossa,* Vila Velha, Parque Estadual de Vila Velha, 9-XI-1966, Occhioni 3436. PARAGUAY. *Dpto. Canindeyú:* 4 km W del cruce Guaraní, ruta 10, camino a Kuruguati, 9-III-2003, López *et al.* 296; *Dpto. Paraguari:* Piribebuy, col. Piraretá, 20-XI-1950, Sparre & Vervoorst 302; *Dpto. San Pedro:* Lima, Ea. “Carumbé”, 6-X-1967, Pedersen 8512.
- B. brevifolia:** ARGENTINA. *Prov. Corrientes: Dpto. Concepción,* Ea. Buena Vista, 18-X-1972, Pedersen 10213; *Dpto. Empedrado,* Derqui, 26-V-1995, López & Vanni 98; *Dpto. Mburucuyá,* P.N.Mburucuyá, Potrero 2 grande, 19-X-2006, Arbo *et al.* 9454. *Prov. Misiones: Dpto. Iguazú.* Parque Nacional Iguazú 8 km E de Pto. de las Canoas, 18-XII-1991, Vanni *et al.* 2966. BRASIL. *Edo. Rio Grande do Sul: Mun. Arroio dos Ratos,* Faxinal, 5-XII-1979, Pedersen 12617. PARAGUAY. *Dpto. Amambay:* Parque Nacional Cerro Corá, camino a cerro Muralla, 21-II-1994, Krapovickas, & Cristóbal 44923.
- B. communis:** ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Ptdo. La Plata,* Isla Martín García, 6-7-IV-1928, Castellanos s.n. (CTES-372062). *Prov. Catamarca: Dpto. Ambato,* La Rinconada, 9 km S de Los Varela, Sierra de Graciana, 27-III-1995, Saravia Toledo *et al.* 12868. *Prov. Chaco: Dpto. 1° de Mayo,* Colonia Benítez, 13-III-1993, López & Vanni 26. *Prov. Córdoba: Dpto. San Alberto,* Pampa de Achala, Ea. La Trinidad P. El Estanciero, 23-II-1982, Sipowig & Cabido 6387. *Prov. Corrientes: Dpto. Alvear,* Ruta 36, a 300 m al N del Puente Bdo. Sta Rosa, 19-VI-1981, Carnevali 4737; *Dpto. Capital,* Laguna Soto, 16-VII-1991, López 50. *Prov. Formosa: Dpto. Estanislao del Campo,* Ea. San Luis, Ossella, 29-IV-1963, Bordón 392. *Prov. Santiago del Estero: Dpto. Choya,* Villa La Punta, falda oriental de Sierra de Guasayán, 4-I-1979, Ulibarri 974. BRASIL. *Edo. Rio Grande do Sul: Mun. Montenegro,* Polo Petroquímico, 18-VIII-1977, Bueno 391. PARAGUAY. *Dpto. Boquerón:* 30 km SE de Loma Plata, Est. Exp. Isla Poí, 25-II-1991, Vanni *et al.* 2260; *Dpto. Paraguari:* Chokoló, 14-XI-1969, Pedersen 9292.
- B. consanguinea:** ARGENTINA. *Prov. Formosa: Dpto. Formosa,* Guaycolec, II-1919, Jörgensen 3314. BRASIL. *Edo. Goiás: Mun. Anápolis,* BR-153, ca. 30 km NE of Anápolis, 28-I-1978, Pedersen 12118; *Mun. Campo Alegre,* Rod. BR-050, km 222, 6-II-1994, Hatschbach *et al.* 59885. *Edo. San Pablo: Mun. Itapeva,* Estação Ecológica de Itapeva, 28-V-1995, Souza *et al.* 8634. PARAGUAY. *Dpto. Amambay:* 25 km N de Pedro Juan Caballero, 18-IV-1995, Schinini *et al.* 29252 A.
- B. contracta:** ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Ptdo. Saavedra,* Abra del Hinojo, 21-XII-1981, Pedersen s.n. (CTES-351808). *Prov. Catamarca: Dpto. Ambato,* La Rinconada, 56 km de Catamarca, base W de la Sierra de Graciana, 25-III-1995, Saravia Toledo *et al.* 12809. *Prov. Córdoba: Dpto. Río Cuarto,* Sierras de Achiras, 23-XII-1928, King s.n. (CTES-369882). *Prov. La Rioja: Dpto. Gral. Belgrano,* Dique de Olta, alrededores del lugar de ingreso del río Olta, 19-XI-1998, Biurrún & Molina 5432. *Prov. Santiago del Estero: Dpto. Ojo de Agua,* Ojo de Agua (alrededores), 15-XII-1947, Baligno 1288. BRASIL. *Edo. Rio Grande do Sul: Mun. Porto Alegre,* Barra do Ribeiro, 14-XI-1948, Rambo 37995.
- B. funckii:** ARGENTINA. *Prov. Córdoba: Dpto. San Alberto,* Pampa de Achala, Ea. La Trinidad, 14-II-1984, Cabido 6787. *Prov. Tucumán: Dpto. Tafí del Valle,* Valle de la ciénaga, 14 Abr. 1904, Lillo 3603 (LIL).
- B. guaglianoneae:** ARGENTINA. *Prov. Misiones: Dpto. Apóstoles,* Camino hacia el Parque Provincial de la Sierra. 23-I-2008, Keller & Franco 4904; Ruta 14, 10 km al N de San José, 22-I-1983, Guaglianone *et al.* 863.
- B. hirtella:** ARGENTINA. *Prov. Corrientes: Dpto. Concepción,* Tatacuá, 9-I-1973, Pedersen 10283; *Dpto. Ituzaingó,* FIPLASTO Empresa Forestal, Centro Forestal Villa Olivari, 22-VIII-1994, Barret s.n. (CTES-236479); E de Ituzaingó, camino a la costa del río Paraná, 9-IX-2005, López & Vanni 363. BRASIL.

- Edo. Paraná: Mun. Campo Mourão*, Campo Mourão, 1978, J. Marques de Lima 505; *Mun. Senges*, S. Antonio, 5 km ao Norte, 28-II-1972, Hatschbach 29271. *Edo. Santa Catarina: Mun. Sao José*, Serra da Boa Vista, 2-II-1953, Reitz 5453. PARAGUAY. *Dpto. Alto Paraná*: 8 km W de la Supercarretera camino a Itakirí, 9-II-2003, López *et al.* 270; *Dpto. Amambay*: Parque Nacional Cerro Corá, 14-XII-1999, Ferrucci *et al.* 1378; *Dpto. Caaguazú*, 22 km S de Caaguazú, Est. Itá Carú, 29-XII-1972, Schinini 5747 A; *Dpto. San Pedro*: Santa Rosa, 17 km N, ruta 3, 12-II-2003, López *et al.* 321.
- B. jacobinae**: BRASIL. *Edo. Goiás: Serra Dourada*, 21-I-1967, Duarte 10255; *Mun. Alto Paraíso de Goiás*, Rod. GO-327, 5-10 km O de Alto Paraíso, 12-II-1990, Hatschbach *et al.* 53874; *Edo. Minas Gerais: Mun. Diamantina*, Ribeirão das Pedras, 14-XI-1971, Hatschbach & Pelanda 27902. *Edo. Paraná: Mun. Palmeira*, 25-X-1976, Dombrowski 6694. PARAGUAY. *Dpto. Amambay*: Parque Nacional Cerro Corá, 2-XI-1997, Basualdo 6446.
- B. junciformis**: BRASIL. *Edo. Paraná: Mun. Curitiba*, Río Atuba, 30-I-1974, Kummrow 183; *Mun. Pirai do Sul*, Pirai do Sul, 16-I-1965, Hatschbach *et al.* 12158. *Edo. San Pablo: Mun. Mogi Guaçu*, Martino Prado, Reserva Biológica da Fazenda Campininha, 27-I-1981, Mantovani 47. PARAGUAY. *Dpto. Amambay*: Camino a Colonia Estrella, 1 km W del Hito 1/44, 10-XII-1997, Schinini & Dematteis 33648; Ea. San Luis, Sierra de Amambay, cerca del límite Brasil-Paraguay, 6-III-2002, Schinini *et al.* 36227.
- B. juncoides**: ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Ptdo. Azul*, Ea. Los Cerrillos, 10-VI-1997, D'Alfonso 2567. *Prov. Catamarca: Dpto. Ambato*, Gracián, 1-I-1940, Castellanos 33474. *Prov. Córdoba: Dpto. Cosquín*, Sa. Grande, Dos Ríos entre río Chaves y Cuchilla Nevada, 3-III-1951, Hunziker 2718. *Prov. Corrientes: Dpto. Ituzaingó*, Arrocería Storti, aprox. 20 km NE Playadito, 16-XII-1981, Carnevali 4912; *Dpto. Paso de los Libres*, Campo Militar, General Avalos, Ea. San Pedro, 6-IV-1972, Carnevali 3204. *Prov. Entre Ríos: Dpto. Federación*, Cantera de Chaviyú, 24-XI-1976, Troncoso *et al.* 1377. *Prov. Jujuy: Dpto. Capital*, Cerro Zapla, camino a la antena, 24-II-1988, Ahumada & Vásquez 6066. *Prov. La Pampa: Dpto. Lihuel Calel*, Sierra de Lihuel Calel, 29-V-1969, Cano 4231. *Prov. La Rioja: Dpto. Gral. Ángel Peñaloza*, Sierra de Los Llanos, paraje llamado "Sobre el Cerro", 19-IV-1989, Biurrun 2810. *Prov. Misiones: Dpto. Apóstoles*; Ruta 14, 10 km E de San José, 26-II-2001, Vanni *et al.* 4595. *Prov. Río Negro: Dpto. San Antonio*, Extremo Norte de Sa. Grande, frente a Pueblo Viejo, laderas SE y S, 21-X-1979, Correa 7106. *Prov. Salta: Dpto. Capital*, Filo de cerros entre Castellanos y San Lorenzo, 6-10 km al E de la Quebrada San Lorenzo, 2-II-1991, Novara *et al.* 10149. *Prov. San Luis: Dpto. Capital*, Sierras de San Luis, Canutal, 21-XII-1929, Castellanos 282. *Prov. Santa Fe: Dpto. Las Colonias*, Aurelia, 1889, Feddersen s. n. (CTES-25721). BRASIL. *Edo. Paraná: Mun. Campo Mourão*, Represa Rio Mourão, 17-V-1992, Hatschbach & Noblick 57071. PARAGUAY. *Dpto. Itapúa*: Cnia. Fram, 2-II-1983, Lurvey 669. URUGUAY. *Dpto. Cerro Largo*: Av. del Lavadero, Puntas del Fraile Muerto, 8-V-1985, Del Puerto 17805.
- B. loefgrenii**: ARGENTINA. *Misiones: Dpto. General Manuel Belgrano*, Campina de Américo, 14-V-2009, López & Vanni 400. BRASIL. *Edo. Goiás: Mun. Mineiros*, Rod. BR 060, 20-VII-1974, Hatschbach 34606. *Edo. Mato Grosso do sul: Mun. Bandeirante*, Rod. Br 163, 11-XI-1973, Hatschbach & Koczicki 33041. *Edo. San Pablo: Mun. Mogi Guaçu*, Fazenda Campininha, 3-X-1977, Jung *et al.* 126. PARAGUAY. *Dpto. Alto Paraná*: 8 km N de Hernandarias Tapi Yupí, 8 km E de la ruta, margen derecha del río Pirá Pytá, 7-II-2003, López *et al.* 265; *Dpto. Amambay*: Colonia Yvypyté, 20-VIII-1980, Schinini & Bordas 20506; *Dpto. Caaguazú*: 14 km N de Caaguazú, camino a Ihu, 27-III-1993, Schinini *et al.* 28113.
- B. paradoxa**: BRASIL. *Edo. Bahia: Mun. Barra da Estiva*, 8 km S de Barra da Estiva, camino a Ituacu: Morro do Ouro y Morro da Torre, aprox., 22-XI-1992, Arbo *et al.* 5706. *Edo. Goiás*: BR 050, 16 km N de Pires Belo (entre Catalao y Cristalina), 30-I-1990, Arbo *et al.* 3083. *Edo. Mato Grosso: Mun. Rosário Oeste*, ca. 7 km de Marzagão em direção a planalto da Serra, 7-X-1997, Souza *et al.* 20277. *Edo. Pará: Mun. Alenquer*, Estrada Cuamba (ramal a direita da Estr. Lauro Sodré), 12 km de Alenquer, a caminho da Fa. Capintuba, 4-XI-1987, Cid Ferreira 9405. *Edo. Paraná: Mun. Balsa Nova*, Barra do Rio Papagaios, 12-IX-1968, Hatschbach 19698.

M. G.López y A. M. Gonzalez - Frutos de *Bulbostylis* en las especies de América austral

- B. rugosa:** ARGENTINA. *Prov. Corrientes: Dpto. Empedrado*, Ea. Las Tres Marías, 26-V-1995, López & Vanni 107; *Dpto. Lavalle*, Barrancas del río Paraná, 25-V-1973, Schinini 6609; *Dpto. Mercedes*, Ea. Las Delicias, cercanías del Ayo. Itá Corá, 3-IV-2001, Tressens *et al.* 6699. PARAGUAY. *Dpto. Cordillera*: Camino entre Tobatí y Caacupé, 24-XI-2005, Schinini *et al.* 36692; *Dpto. San Pedro*: Santa Rosa, 7 km N, ruta 3, 12-II-2003, López *et al.* 323.
- B. scabra:** ARGENTINA. *Prov. Chaco: Dpto. 1° de Mayo*, Colonia Benítez, 24-IV-1969, Schulz 12653. *Prov. Corrientes: Dpto. Bella Vista*, Near the slaughter-house, some 5 km S of Bella Vista, 29-I-1956, Pedersen 3725; *Dpto. Capital*, ayo. Riachuelo y Ruta 12, 14-XII-2002, López *et al.* 187. *Prov. Entre Ríos: Dpto. Colón*, Parque Nacional El Palmar, 26-I-1973, Burkart 29202. *Prov. Formosa: Dpto. Patiño*, Ea. San Luis (Osella), 29-IV-1963, Bordón s.n. (CTES-410460). *Prov. Misiones: Dpto. San Ignacio*; Campos del Teyucuaré, 13-XI-1996, Vanni *et al.* 3863. BRASIL. *Edo. Paraná: Mun. Laranjeiras do Sul*, Rio Iguacu, prox. a barra do Perdido, 9-XII-1968, Hatschbach, & Guimarães 20587. *Edo. Rio Grande do Sul: Mun. Alegrete*, BR 290, 40 km SE de Alegrete, 5-XII-1978, Krapovickas & Cristóbal 34163. *Edo. Santa Catarina: Mun. Jaguaruna*, Near Jaguaruna, 9-III-1984, Pedersen 13783. PARAGUAY. *Dpto. Amambay*: Parque Nacional Cerro Corá, 8-VIII-1987, Mereles 1075. URUGUAY. *Dpto. Colonia*: I-1917, Hauman s.n. (CTES-372105).
- B. sphaerocephala:** ARGENTINA. *Prov. Misiones: Dpto. General Manuel Belgrano*, 7 km W de Bernardo de Irigoyen, Campina de Américo, cerca del cementerio, 6-XII-2007, Dematteis 2708; *Dpto. San Ignacio*, San Ignacio, casa de H. Quiroga, 13-I-1976, Krapovickas & Cristóbal 28712; Campos de Teyucuaré, 13-XI-1996, Vanni *et al.* 3864; 7 km SW de San Ignacio, en lomada cercana al río Paraná, 1-III-2004, Vanni *et al.* 4616. BRASIL. *Edo. Paraná: Mun. Balsa Nova*, São Luis do Purunã, 14-XII-1979, Hatschbach 42634. *Edo. Rio Grande do Sul: Mun. San Leopoldo*, San Leopoldo, 15-X-1937, Orth 2867; *Edo. Santa Catarina: Mun. Lages*, Parque das Pedras Brancas, 10 km SE de Lages, 19-I-1988, Krapovickas & Cristóbal 42097. PARAGUAY. *Dpto. Alto Paraná: Cnia. Laguna*, camino a Itakiri, ca. 64 km NE de Hernandarias, 28-III-1993, Schinini *et al.* 28209; *Dpto. Amambay*: Pedro Juan Caballero, 21-X-1986, Pedersen 14693; *Dpto. Itapúa: Trinidad*, 30-X-1994, Krapovickas *et al.* 46157; *Dpto. Paraguari*: Salto de Piraretá, 14-XI-1978, Arbo *et al.* 1741; *Dpto. San Pedro*: Distr. Lima, Ea. “Carumbé”, 30-XI-1969, Pedersen 9452.
- B. sphaerolepis:** ARGENTINA. *Prov. Corrientes: Dpto. Berón de Astrada*, Ayo. Santa Isabel y Ruta 12, 21-III-1974, Schinini & Quarin 8533; *Dpto. Empedrado*, Ea. Las Tres Marías, 26-V-1995, López & Vanni 101. *Prov. Jujuy: Dpto. Capital*, Sierra de Zapla, 28-III-1973, Cabrera *et al.* 23664. *Prov. Misiones: Dpto. San Ignacio*, San Ignacio, casa de Horacio Quiroga, 13-I-1976, Krapovickas & Cristóbal 28787. BRASIL. *Edo. Paraná: Mun. Curitiba*, Capao de Imbuia, 24-II-1975, Dombrowski 5914; *Edo. Rio Grande do Sul: Mun. Quaraí*, Serra Jarao, 27-XI-1979, Pedersen 12562.
- B. stenocarpa:** PARAGUAY. *Dpto. Amambay*: Ruta 3, 33 km S de Bella Vista, 18-IV-1995, Schinini *et al.* 29318; 25 km N de Pedro Juan Caballero, 18-IV-1995, Schinini *et al.* 29252.
- B. subtilis:** ARGENTINA. *Prov. Chaco: Dpto. 1° de Mayo*, Colonia Benítez, 1-III-1932, Schulz 642. *Prov. Corrientes: Dpto. Itatí*, Ea. “Tuyuti”, 29-IX-1972, Pedersen 10192. *Prov. Misiones: Dpto. Apóstoles*, Ruta 14, 10 km E de San José, 26-II-2001, Vanni *et al.* 4596; *Dpto. Eldorado*, 18 km E de Eldorado, sobre ruta 17, 24-II-2001, Vanni *et al.* 4548; *Dpto. Iguazú*, Parque Nac. Iguazú, 8 km E de Pto. De las Canoas, 18-XII-1991, Vanni *et al.* 2966 B. *Prov. Salta: Dpto. Santa Victoria*, Ruta 40, 5 km de Los Toldos hacia Lipeo, 5-XII-2005, Arbo *et al.* 9110. PARAGUAY. *Dpto. Alto Paraná*: Ea. Santa Elena, Pira Pyta, 11-x-1990, Schinini & Caballero Marmori 27175; *Dpto. Amambay*: Cnia. Pindo, camino entre Itaquyry y Curuguati, Estribaciones de la Sra. de San Joaquin, 11-X-1995, Schinini & Caballero Marmori 30181; *Dpto. Itapúa*: Fram, 1983, Lurvey 668. *Dpto. Misiones*: Ea. “La Soledad”, Santiago, 20-X-1967, Pedersen 8668.

