

Fig. 3. — Microfotografía al Microscopio Óptico de las esporas de:
A) *P. lonchitis* ($\times 16$); B) *P. lonchitis* ($\times 40$); C) *P. aculeatum*
($\times 16$); D) *P. aculeatum* ($\times 100$); E) *P. setiferum* ($\times 16$);
F) *P. setiferum* ($\times 100$).

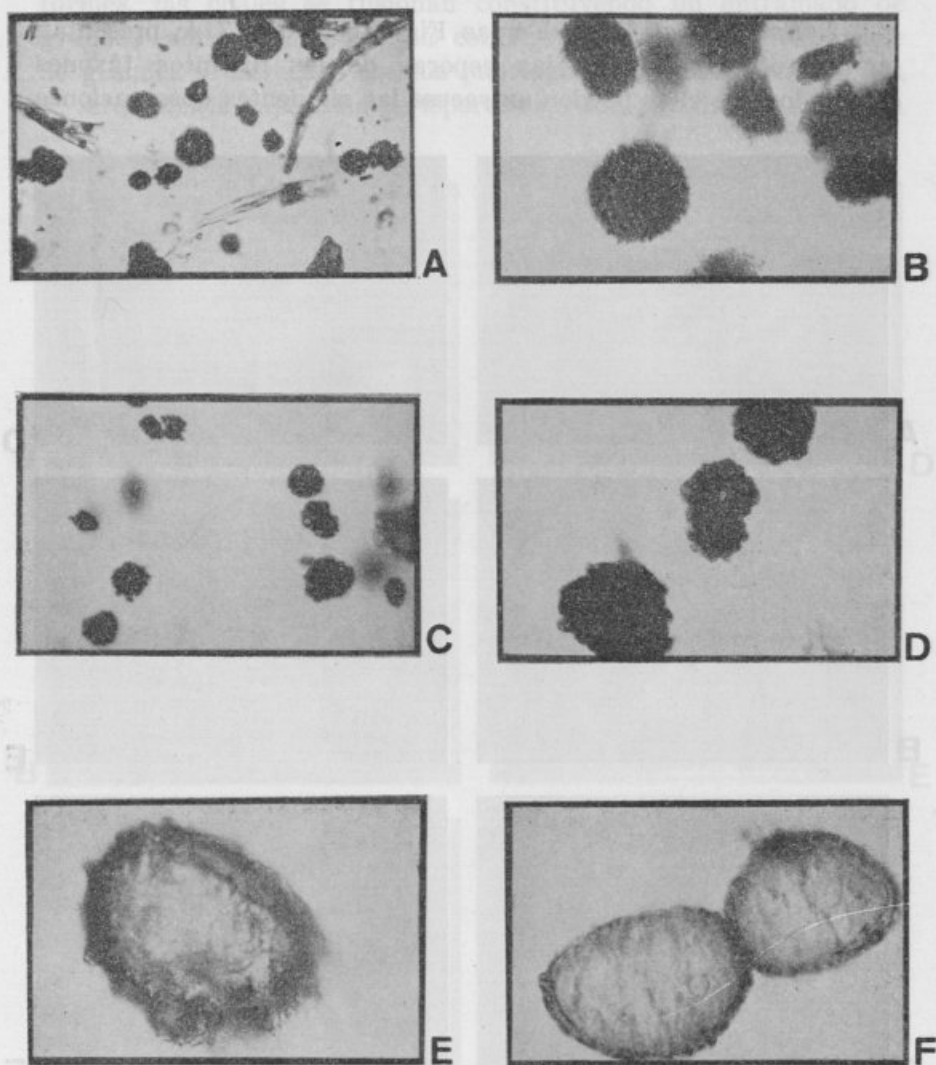


Fig. 4. — Microfotografía al Microscopio Óptico de las esporas de:
 A) *P. × illyricum* (× 16); B) *P. × illyricum* (× 40); C) *P. × bick-*
nelli (× 16); D) *P. × bicknelli* (× 40); E) *P. braunii* (× 100);
 F) *P. falcatum* (× 100).

sentan esporas oscuras, amorfas y de tamaño variable, apareciendo mezcladas con diplosporas.

2. *Estudios al MEB.* En las Figuras 5, 6 y 7 se presentan las microfotografías de las esporas de los distintos táxones estudiados. De ellas pueden extraerse las siguientes observaciones

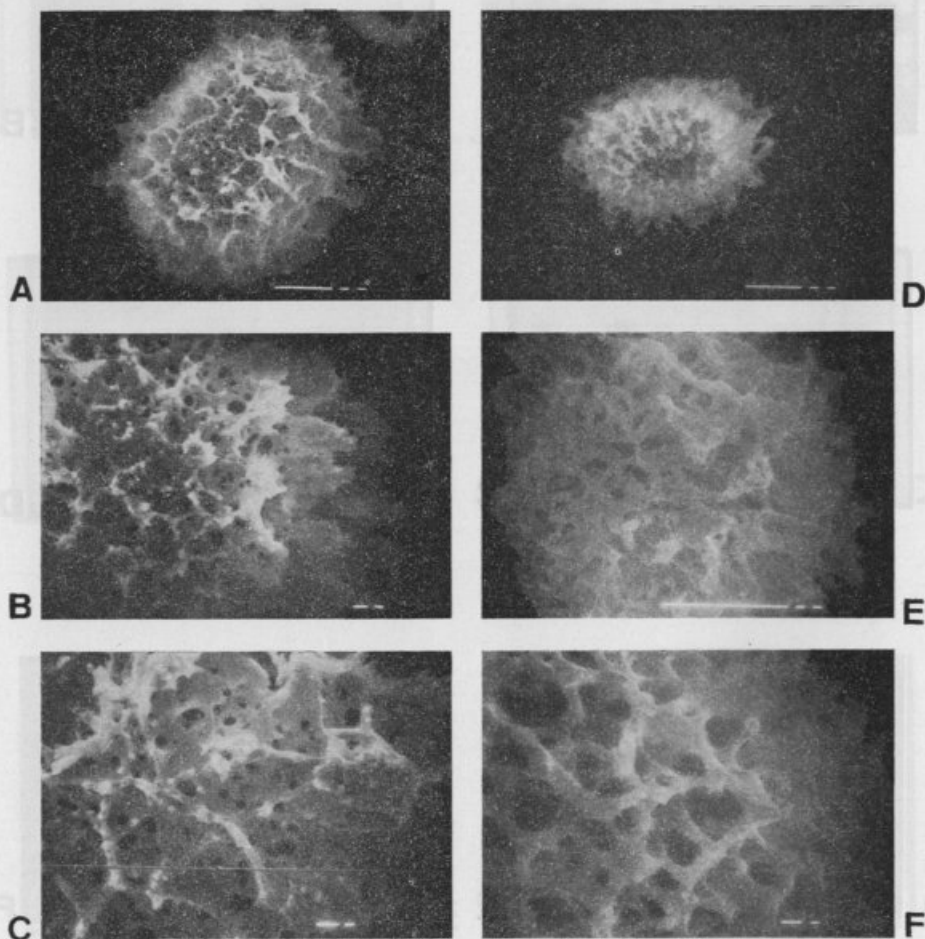


Fig. 5. — Microfotografía al Microscopio Electrónico de Barrido de: A) *P. aculeatum* (vista general, $\times 1600$); B) *P. aculeatum* (detalle del perisporio, $\times 3500$); C) *P. aculeatum* (detalle del perisporio, $\times 5500$); D) *P. lonchitis* (vista general, $\times 1550$); E) *P. lonchitis* (detalle del perisporio, $\times 3530$); F) *P. lonchitis* (detalle del perisporio, $\times 5500$).

complementarias a las ya comentadas en el apartado anterior: 1) En *P. lonchitis* el perisporio está constituido por fibras columniformes, las cuales se fusionan constituyendo un entramado de grandes mallas. Este sistema confiere un aspecto en superficie de grandes y estrechas crestas puntiagudas y fimbriadas; 2) En *P. setiferum* la superficie perisporal está constituida por una capa

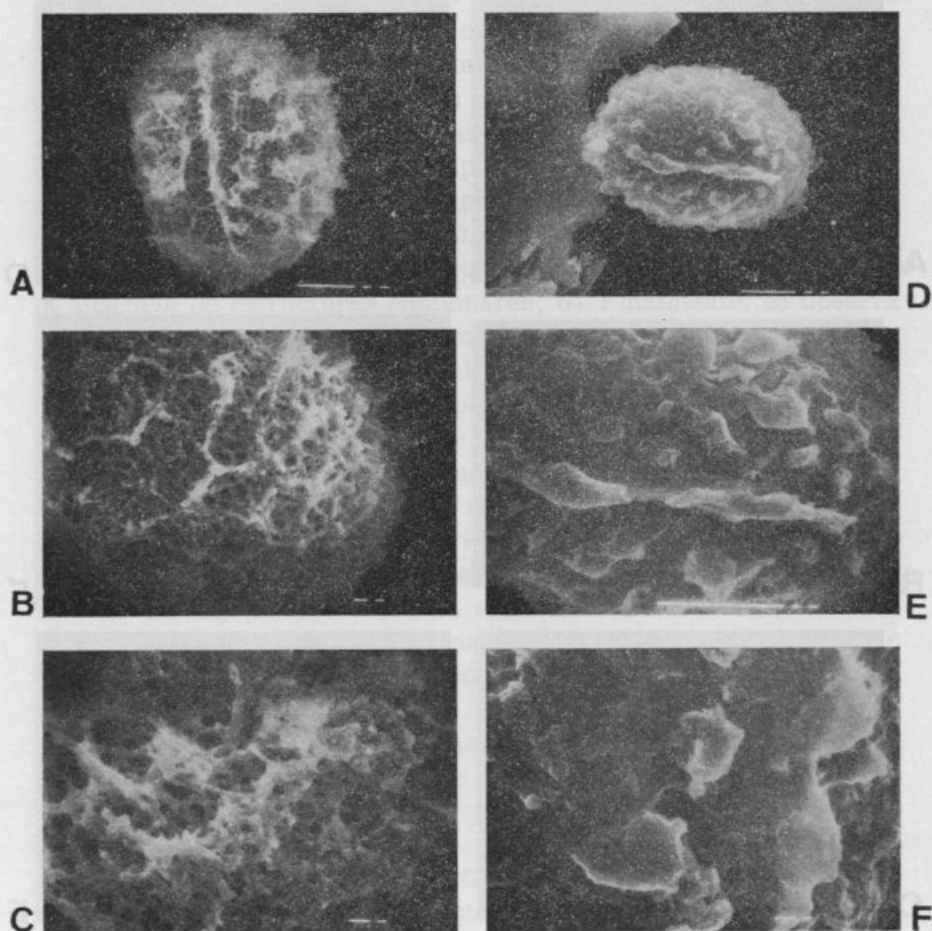


Fig. 6. — Microfotografía al Microscopio Electrónico de Barrido de: A) *P. braunii* (vista general, $\times 1600$); B) *P. braunii* (detalle del perisporio, $\times 3600$); C) *P. braunii* (detalle del perisporio, $\times 5500$); D) *P. falcatum* (vista general, $\times 1500$); E) *P. falcatum* (detalle del perisporio, $\times 3600$); F) *P. falcatum* (detalle del perisporio, $\times 5500$).

rugosa continua, laxamente perforada y granulosa. Esta rugosidad se traduce en grandes pliegues emergentes que dan el aspecto de crestas continuas; 3) En el alotetraploide *P. aculeatum*, al igual que para otros caracteres, se observa intermedianidad entre los dos parentales. La superficie perisporal está constituida por pliegues fimbriados que conforman crestas más o menos con-

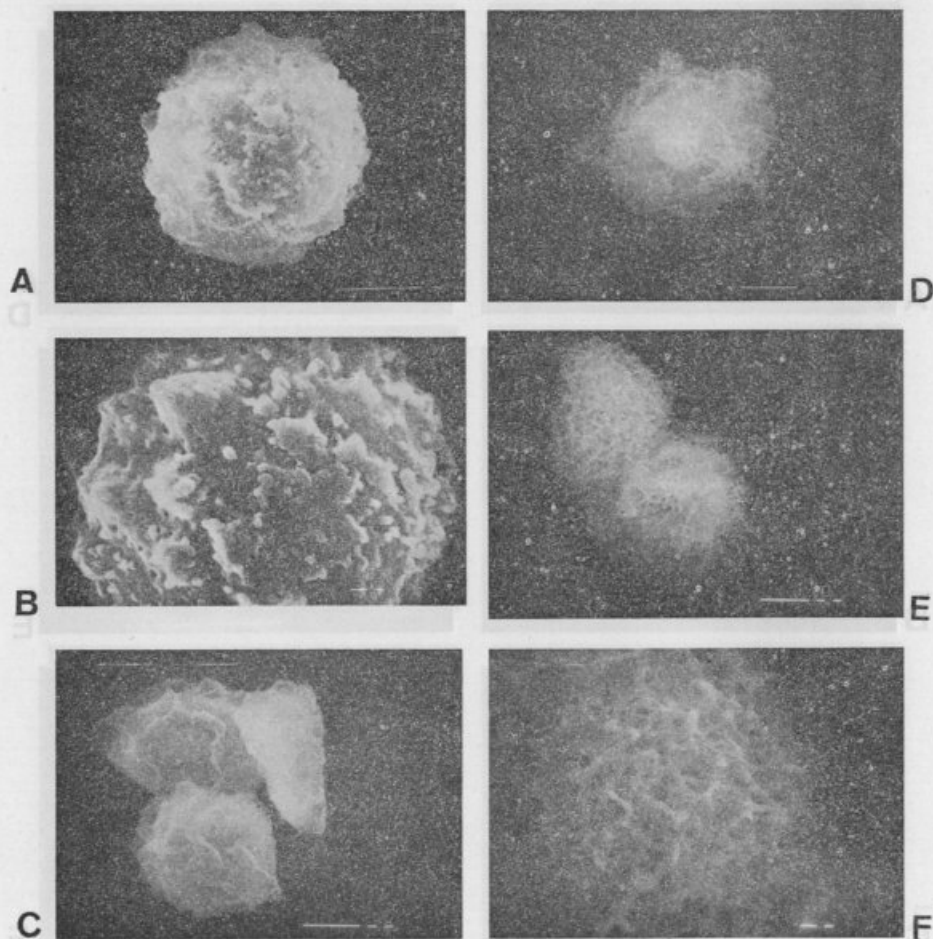
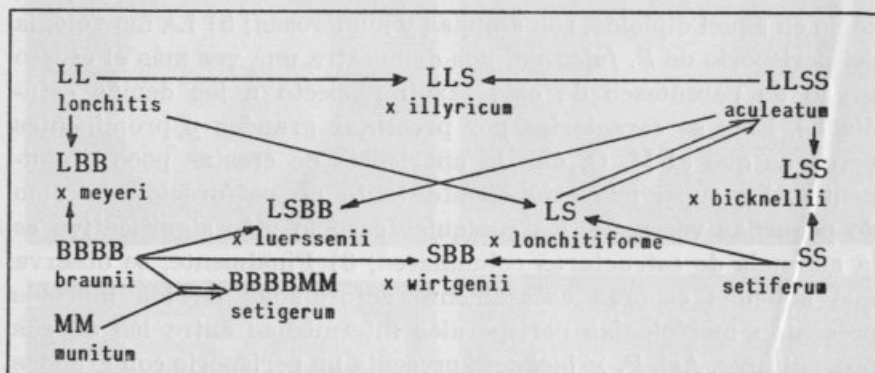


Fig. 7. — Microfotografía al Microscopio Electrónico de Barrido de: A) *P. setiferum* (vista general, $\times 1500$); B) *P. setiferum* (detalle del perisporio, $\times 5500$); C) *P. bicknelli* (vista general, $\times 1580$); D) *P. illyricum* (vista general, $\times 1580$); E) *P. illyricum* (vista general, $\times 1320$); F) *P. illyricum* (detalle del perisporio, $\times 4200$).

tinuas, las cuales presentan amplias bases convergentes perforadas; estas perforaciones son más laxas y pequeñas que en *P. lonchitis*, pero más densas que en *P. setiferum*. La superficie perisporal también aparece ornamentada por granos similares a los de *P. setiferum*, pero en menor cantidad; 4) Sorpresivamente la estructura perisporal de *P. braunii* resulta ser más similar a la de *P. lonchitis* que a la de *P. setiferum*, ya que está constituido por un denso entramado de fibras baculares las cuales se reúnen en pequeñas crestas continuas y agudas. Las mallas, como en aquel diploide, son amplias y numerosas; 5) La morfología del perisporio de *P. falcatum* nos demuestra una vez más el escaso grado de parentesco de este taxon respecto a los demás estudiados. Este se caracteriza por presentar grandes y prominentes verrugas que al M. O. dan la apariencia de crestas poco prominentes. La superficie está exenta tanto de perforaciones, como de pequeñas verrugas. En cualquier caso lo más significativo es la ausencia de estructuras columnares; 6) Finalmente, se observa que aquellas esporas escasamente deformadas de los híbridos presentan morfologías perisporales intermedias entre las de sus progenitores. Así, *P. × bicknelli* presenta un perisporio con grandes crestas, similares a aquellas de *P. setiferum*, pero densamente perforadas en su base. Además, la estructura fimbriada en el ápice de dichas crestas es más conspicua que en aquel parental diploide. En cuanto a *P. × illyricum*, aunque aparentemente con una morfología más similar a la de *P. lonchitis*, sin embargo el tamaño de las perforaciones es sensiblemente menor, por tanto se manifiesta la tendencia fusional de *P. aculeatum*, si bien existe una ausencia total de granulación.

Datos genéticos. — Desde hace tiempo es conocido que *P. lonchitis* y *P. setiferum* se tratan de dos especies diploides ($2n = 82$), y que *P. aculeatum*, *P. braunii* y *P. falcatum* se tratan de dos especies tetraploides ($2n = 164$). Más reciente es el conocimiento de que los híbridos *P. × bicknelli* y *P. × illyricum* se tratan de táxones triploides. En base a estos conteos cromosómicos y a la realización de programas de hibridación (MANTON, 1950; MANTON & REICHSTEIN, 1961; SLEEP & REICHSTEIN, 1967; VIDA, 1966) sintetizados por VIDA & REICHSTEIN (1975) se ha logrado conocer cual es el origen y microevolución del complejo europeo de este género. Según estos autores, *P. aculeatum* sería un alotetraploide originado

a partir del cruzamiento de *P. lonchitis* y *P. setiferum* (Gráfica 8) a través de la formación del híbrido *P. × lonchitifforme* y posterior duplicación de su material cromosómico. Este alotetraploide se sitúa en el intermedio tanto ecológico como geográfico de los parentales, por lo que es lógico que aparezcan cruzamientos del alotetraploide con los respectivos diploides, surgiendo en tal caso los híbridos triploides *P. × illyricum* y *P. × bicknellii*. Por su parte, *P. braunii* parece tratarse de un autotetraploide cuyo diploide



Gráfica 8.—Esquema de los procesos microevolutivos en las especies del género *Polystichum* en Europa (basado en VIDA & REICHSTEIN, 1975, y WAGNER, 1979).

ancestral sería probablemente alguna especie norteamericana relacionada, aunque no próxima, con el complejo *aculeatum*. En centroeuropa son conocidos los tres híbridos resultantes de los cruzamientos de dicho autotetraploide con *P. aculeatum*, *P. setiferum* y *P. lonchitis*. La detección por parte de WAGNER (1979) de un alohexaploide (*P. setigerum*), originado a partir del cruzamiento de *P. braunii* y *P. munitum*, hace pensar en la probable estabilización de los híbridos triploides *P. × illyricum* y *P. × bicknellii* a un nivel hexaploide.

Datos fitoquímicos.— En los cromatogramas realizados (Fig. 8) se han detectado un total de 33 manchas cuyas características se presentan en la Tabla I. El grupo de manchas en trama de rayas (1, 2, 3, 4), caracterizado por la alta movilidad de los eluyentes utilizados, es común a todos los componentes del género examinados. El segundo gran complejo de manchas

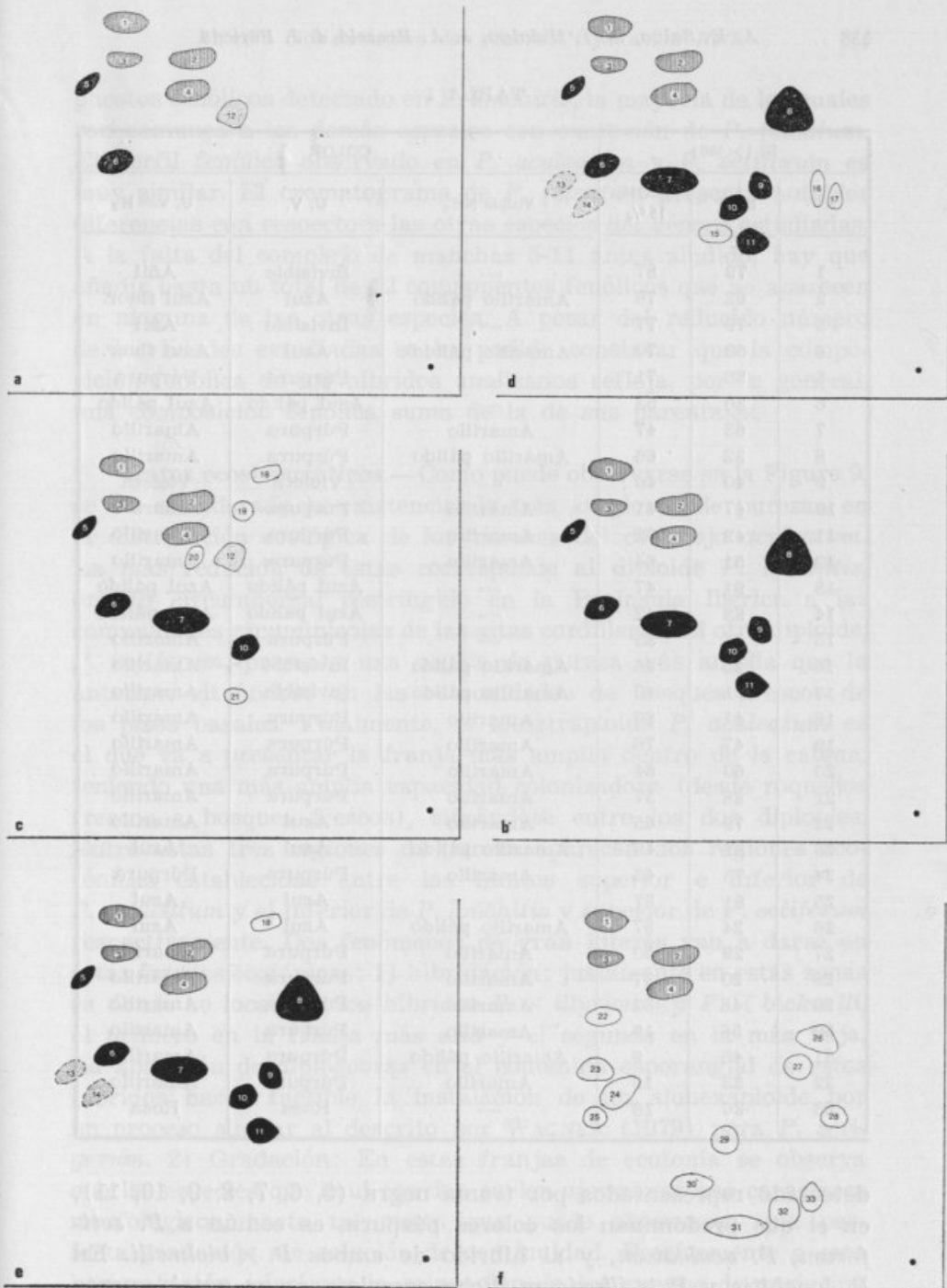


Fig. 8.—Cromatogramas de los distintos táxones ibéricos del género *Polystichum*: a: *P. lonchitis*; b: *P. aculeatum*; c: *P. × illyricum*; d: *P. setiferum*; e: *P. × bicknelli*; f: *P. falcatum*.

TABLA I

N.º	Rf (>100)		COLOR		
	BAW	AcOH 15 0/0	Visible NH ₃	U. V.	U. V./+H ₂
1	79	87	—	Invisible	Añil
2	62	78	Amarillo pálido	Azul	Azul fluor.
3	79	77	—	Invisible	Añil
4	62	70	Amarillo pálido	Azul	Azul fluor.
5	88	71	—	Púrpura	Púrpura
6	80	53	—	Azul pálido	Azul pálido
7	63	47	Amarillo	Púrpura	Amarillo
8	32	66	Amarillo pálido	Púrpura	Amarillo
9	40	46	—	Violeta	Violeta
10	47	41	Amarillo	Púrpura	Amarillo
11	42	32	Amarillo	Púrpura	Amarillo
12	51	64	Amarillo	Púrpura	Amarillo
13	91	47	—	Azul pálido	Azul pálido
14	83	42	—	Azul pálido	Azul pálido
15	51	35	—	Púrpura	Amarillo
16	25	46	Amarillo pálido	Invisible	Amarillo
17	21	49	Amarillo pálido	Invisible	Amarillo
18	41	86	Amarillo	Púrpura	Amarillo
19	47	76	Amarillo	Púrpura	Amarillo
20	60	64	Amarillo	Púrpura	Amarillo
21	38	37	Amarillo	Púrpura	Amarillo
22	79	65	Amarillo	Azul	Amarillo
23	81	49	Amarillo pálido	Azul	Azul
24	75	43	Amarillo	Púrpura	Púrpura
25	81	37	—	Azul	Azul
26	24	57	Amarillo pálido	Azul	Azul
27	29	50	Amarillo	Púrpura	Amarillo
28	20	37	Amarillo	Púrpura	Amarillo
29	48	31	Amarillo	Púrpura	Amarillo
30	56	19	Amarillo	Púrpura	Amarillo
31	45	9	Amarillo pálido	Púrpura	Amarillo
32	33	13	Amarillo	Púrpura	Amarillo
33	26	16	—	Rosa	Rosa

detectado representados por trama negra (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11), en el que predominan los colores púrpura, es común a *P. setiferum*, *P. aculeatum*, y al híbrido de ambos *P. × bicknelli*. En *P. lonchitis* y *P. × illyricum* dicho complejo se ve notablemente disminuido. Es necesario destacar el reducido número de com-

puestos fenólicos detectado en *P. lonchitis*, la mayoría de los cuales son comunes a las demás especies con excepción de *P. falcatum*. El perfil fenólico observado en *P. aculeatum* y *P. setiferum* es muy similar. El cromatograma de *P. falcatum* presenta notables diferencias con respecto a las otras especies del género estudiadas. A la falta del complejo de manchas 5-11 antes aludido, hay que añadir hasta un total de 12 componentes fenólicos que no aparecen en ninguna de las otras especies. A pesar del reducido número de localidades estudiadas se ha podido constatar que la composición fenólica de los híbridos analizados refleja, por lo general, una composición fenólica suma de la de sus parentales.

Datos ecosistemáticos.—Como puede observarse en la Figura 9, se ha considerado la existencia de tres «regiones de pureza» en la distribución ecológica de los táxones del complejo *aculeatum*. La más reducida de estas corresponde al diploide *P. lonchitis*, orófito circumboreal restringido en la Península Ibérica a las comunidades cacuminícolas de las altas cordilleras. El otro diploide, *P. setiferum*, presenta una región de pureza más amplia que la anterior, situándose en las comunidades de bosques frescos de los pisos basales. Finalmente, el alotetraploide *P. aculeatum* es el que va a presentar la franja más amplia dentro de la catena, teniendo una más amplia capacidad colonizadora (desde roquedos frescos a bosques frescos), situándose entre los dos diploides. Entre estas tres regiones de pureza aparecen dos regiones ecotónicas establecidas entre los límites superior e inferior de *P. aculeatum* y el inferior de *P. lonchitis* y superior de *P. setiferum* respectivamente. Dos fenómenos de gran interés van a darse en estas franjas ecotónicas: 1) hibridación: justamente en estas zonas es donde se localizan los híbridos *P. × illyricum* y *P. × bicknelli*, el primero en la franja más alta y el segundo en la más baja. La aparición de diplosporas en el contenido esporangial de estos híbridos hacen factible la instalación de un alohexaploide por un proceso similar al descrito por WAGNER (1979) para *P. setigerum*. 2) Gradación: En estas franjas de ecotonía se observa que las especies que aquí convien suelen aproximar sus caracteres morfológicos, hasta tal punto que puede observarse una perfecta gradación sin solución de continuidad. Precisamente a esta integradación aducimos la solapación de los rangos de variación de muchos de los caracteres analizados. Este fenómeno ya fue

puesto de manifiesto por VIDA & REICHSTEIN (1975), quienes sugirieron dos posibles explicaciones para el mismo: Las diferencias morfológicas entre dos especies de *Polystichum* es producto de la muy compleja acción de la selección natural bajo distintas condiciones ecológicas. Por consiguiente, la selección

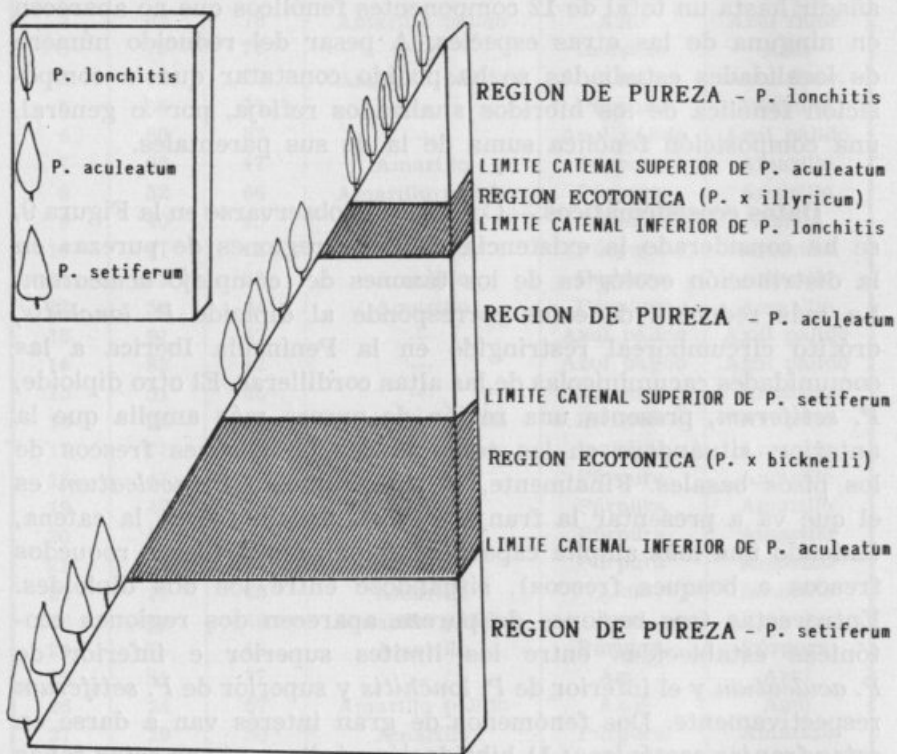


Fig. 9. — Catena ideal de distribución de las especies en el complejo *aculeatum*.

natural en el intermedio ecológico favorecería que los fenótipos se acercuen a un intermedio morfológico entre ambas especies. La segunda interpretación a este hecho es aquella que explica que el intermedio morfológico se conseguiría por introgresión génica a través de hibridación y retrocruzamiento, lo cual es mucho más efectivo en conseguir rápidas alteraciones génicas, apoyado por el hecho de que no existen fuertes barreras reproductoras entre las especies en cuestión.

TABLA II

CARACTERES	P. SETIFERUM	P. ACULEATUM	P. LONCHITIS	P. x ILLYRICUM	P. x BICKNELLI
FRONDE					
- Longitud (cm)	(30-)45-70(-80)	(25-)35-60(-70)	(12-)21-36(-40)	(13-)36-67(-72)	(54-)55-75(-76)
PECIOLO					
- R Lpec/Lfro	1/4-1/5	1/5-1/7	1/6-1/12	1/9-1/11	1/6-1/8
- Páleas					
- Forma	linear-lanceoladas a ovado-oblongas castaño-oscuros (bicoloras)	linear-lanceoladas a ovado-oblongas castaño-claras	lanceoladas castaño-claras	lanceoladas castaño-claras	linear-lanceoladas a ovado-oblongas castaño-claras
- Color					
LAMINA					
- Anchura máxima (situación del par respecto a la base)	(7-)10(-16)	(8-)12(-17)	(10-)15(-26)	(9-)17(-21)	10-17
- Relación L/A	(1-)2-3(-4)	(2'5-)3-4'5(-6)	(3-)5-7(-8)	(2-)3(-4)	(2-)3(-4)
- Base de la lámina (respecto anchura máxima)	muy ancha (2/3 o más)	estrecha (1/2 o menos)	muy estrecha (1/10)	estrecha (1/2-1/10)	ancha (1/2-2/3)
- Morfología	trullada con la base ampliamente truncada	estrechamente trullada con la base truncada	lanceolada con los lados + paralelos	lanceolada	trullada
- Grado de división	bipinnada a tripinnatífida	bipinnatífida a bipinnatipartida	unipinnada	bipinnatífida	bipinnada
- Número de pares de pinnas	26-37	27-39	28-40	27-41	31-40
- Textura	tenera	coriácea	coriácea	coriácea	subcoriácea
SEGMENTOS DE ÚLTIMO ORDEN (SUO)					
- Número de pares de SUO's en la pinna mayor	15-21	8-18	1	11-15	16-20
- R L/A de la pinnula acroscópica de la pinna mayor	0'3-3'6	0'2-3'4	NC	NC	1'3-3'4
- Grado de diferenciación de la aurícula	diferenciada	escasamente diferenciada	netamente diferenciada	diferenciada	diferenciada
- Angulo que forma la aurícula con el nervio medio del SUO	c. 90°	agudo	agudo	agudo	c. 90°
- Tipo de inserción del SUO a la costa	Peciolada	adnata a peciolada	peciolada	adnata	adnata a peciolada
- Angulo de inserción del SUO a la costa	recto	agudo	recto	c. recto	agudo
- Tipo de margen	serrado a dentado con dientes cuadrangulares	irregularmente serrado con dientes cortos y agudos	serrado con dientes largos y estrechamente agudos	serrado con dientes cortos y agudos	serrado con dientes cortos y cuadrangulares
- Tipo de espinas	cortas y blandas.	cortas y duras	largas y duras	cortas y duras	cortas y duras
- N° de espinas por SUO	(8-)10(-12)	(9-)11(-13)	(16-)24(-32)	(8-)10(-12)	(8-)10(-12)
SOROS					
- Distribución en la lámina (\bar{x} del % de pinnas fértiles)	79'17	69'88	68'75	64'25	59'76
- N° de soros por SUO (\bar{x})	12	13	23	9	20
- Situación de los soros respecto a los nervios	terminación	mediación	mediación	mediación	terminación
ESPORAS					
- Diámetro ecuatorial (μ m)	(29-)31-35(-39)	(29-)34-37(-39)	(29-)31-25(-37)	NC	NC
- Color (al MO)	castaño-claras	castaño-oscuros	castaño-oscuros	castaño-oscuros	castaño-oscuros
- Morfología (vista ecuatorial)	ovadas	elipsoidales	elipsoidales	deformes	deformes
- Morfología del perisporio (aspecto al MO)	laxamente crestado (crestas de borde entero)	cristulado (crestas de borde dentado)	densamente fimbriado	NC	NC
NUMERO CROMOSOMICO					
- Nivel de ploidía (x=41)	2n	4n	2n	3n	3n

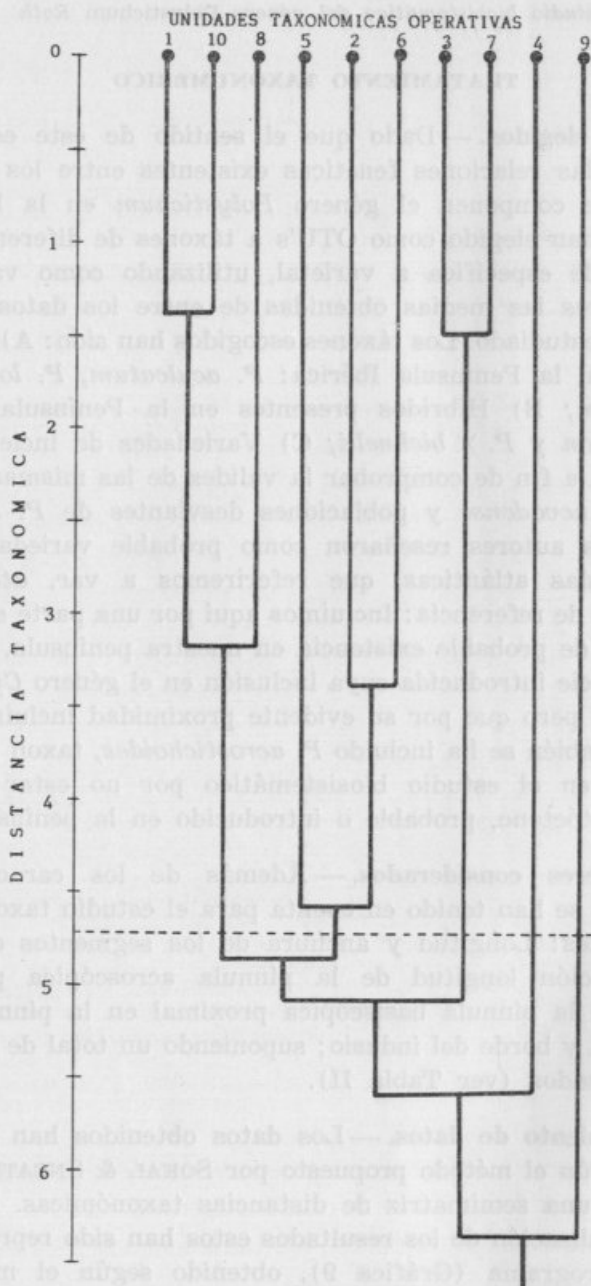


TRATAMIENTO TAXONUMÉRICO

OTU's elegidos.— Dado que el sentido de este estudio es comprobar las relaciones fenéticas existentes entre los distintos táxones que componen el género *Polystichum* en la Península Ibérica, se han elegido como OTU's a táxones de diferentes categorías, desde específica a varietal, utilizando como valores de los caracteres las medias obtenidas de entre los datos de todo el material estudiado. Los táxones escogidos han sido: A) Especies presentes en la Península Ibérica: *P. aculeatum*, *P. lonchitis* y *P. setiferum*; B) Híbridos presentes en la Península Ibérica: *P. × illyricum* y *P. × bicknelli*; C) Variedades de incierto valor taxonómico, a fin de comprobar la validez de las mismas: *P. lonchitis* var. *nivadense* y poblaciones desviantes de *P. setiferum* que algunos autores reseñaron como probable variedad de las costas e islas atlánticas, que referiremos a var. *atlanticum*; D) Táxones de referencia: Incluimos aquí por una parte a *P. braunii*, especie de probable existencia en nuestra península, y *P. falcatum*, especie introducida cuya inclusión en el género *Cyrtomium* no se duda, pero que por su evidente proximidad incluimos aquí. Además también se ha incluido *P. acrostichoides*, taxon no tenido en cuenta en el estudio biosistemático por no estar presente ni como autóctono, probable o introducido en la península.

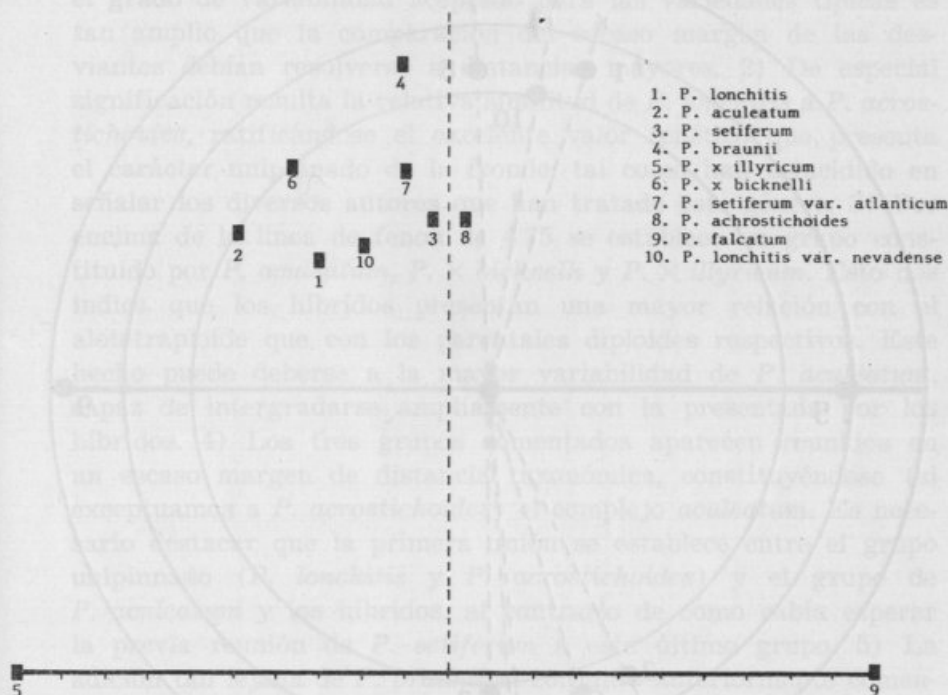
Caracteres considerados.— Además de los caracteres ya comentados se han tenido en cuenta para el estudio taxonumérico los siguientes: Longitud y anchura de los segmentos de último orden, relación longitud de la pinnula acroscópica proximal/ longitud de la pinnula basiscópica proximal en la pinna mayor, persistencia y borde del indusio; suponiendo un total de 35 caracteres analizados (ver Tabla II).

Tratamiento de datos.— Los datos obtenidos han sido procesados según el método propuesto por SOKAL & SNEATH (1963), resultando una semimatriz de distancias taxonómicas. Para una mejor visualización de los resultados estos han sido representados en un dedrograma (Gráfica 9), obtenido según el método de SOKAL & MISCHENER (1958), siguiendo en este caso el procedimiento WPGM. Con el fin de complementar esta representación se ha realizado además aquella otra según el método propuesto por BRAY & CURTIS (1957) (Gráfica 10). En esta segunda repre-



Gráfica 9.— Dendrograma mostrando las relaciones fenéticas entre 1: *P. lonchitis*; 2: *P. aculeatum*; 3: *P. setiferum*; 4—*P. braunii*; 5: *P. × illyricum*; 6: *P. × bicknelli*; 7: *P. setiferum* var. *atlanticum*; 8: *P. acrostichoides*; 9: *P. falcatum*; 10: *P. lonchitis* var. *nevadense*.

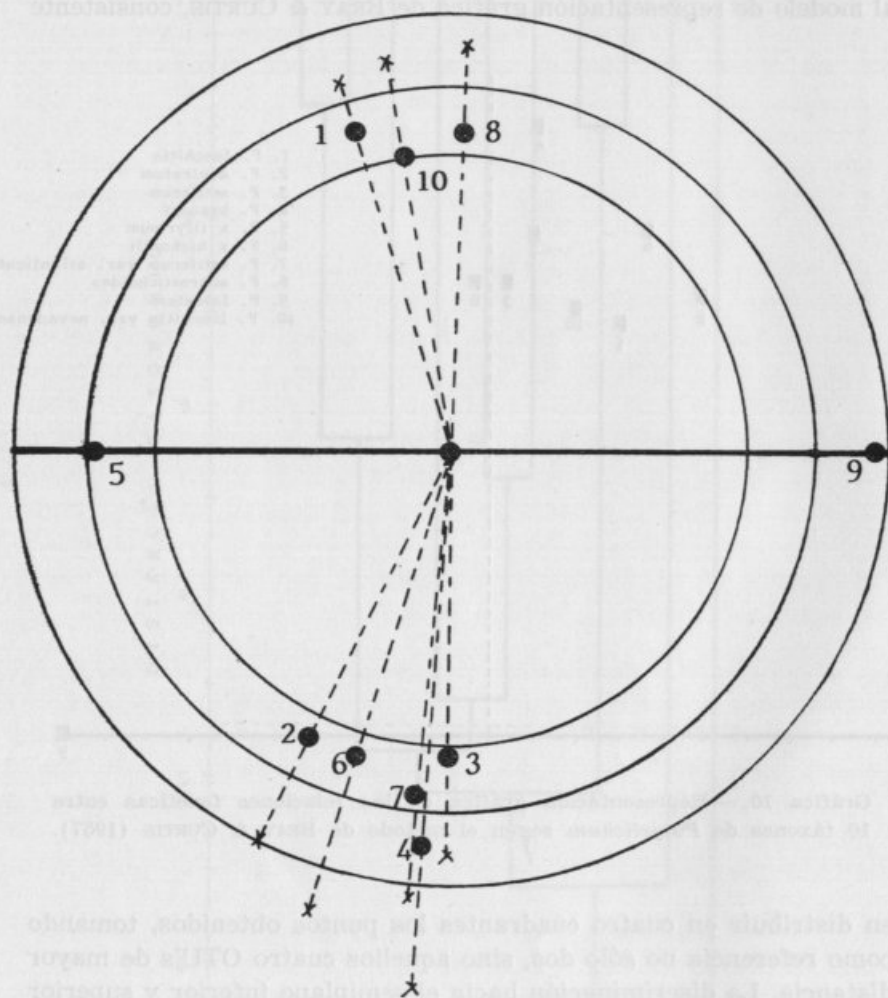
sentación es evidente una serie de anomalías, como es el caso de la mayor proximidad de la variedad típica de *P. setiferum* a *P. acrostichoides* que a su variedad *atlanticum*. Con el fin de eliminar estas anomalías se ha llevado a cabo una modificación al modelo de representación gráfica de BRAY & CURTIS, consistente



Gráfica 10. — Representación gráfica de las relaciones fenéticas entre 10 táxones de *Polystichum* según el método de BRAY & CURTIS (1957).

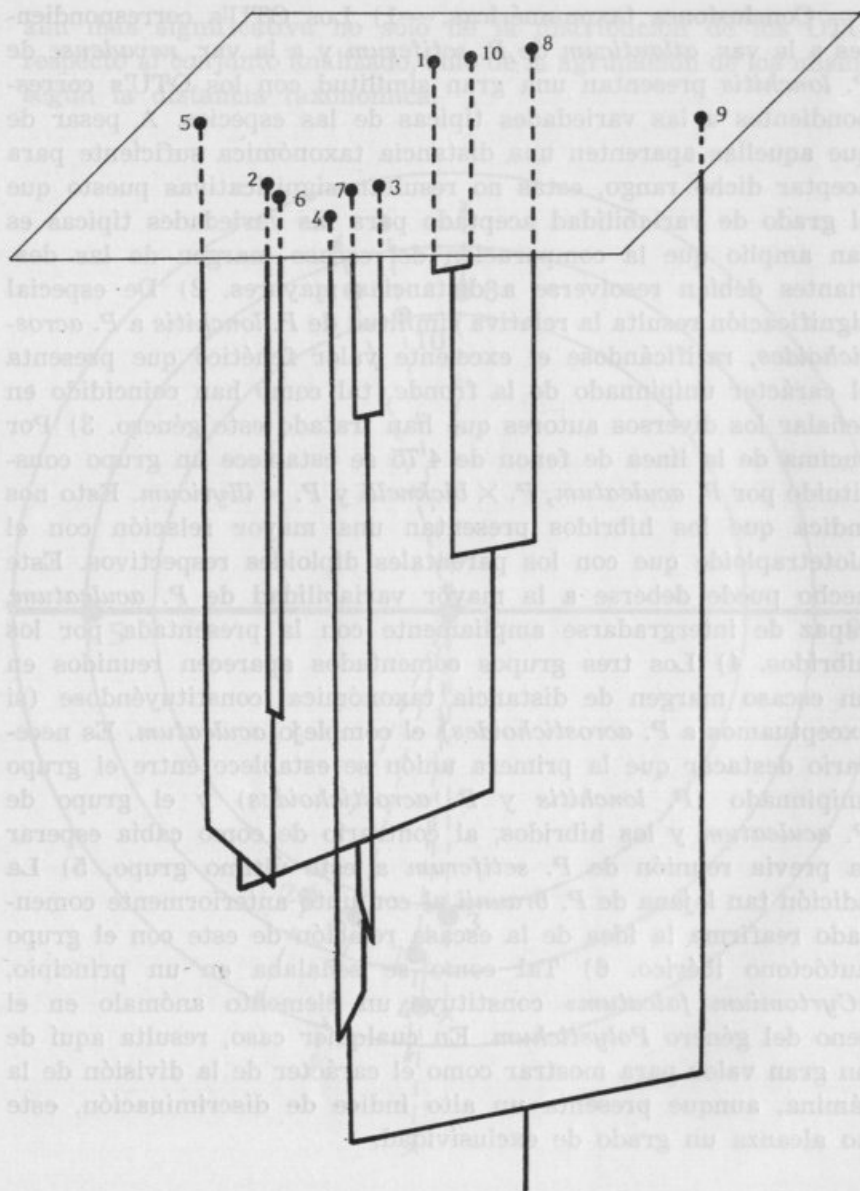
en distribuir en cuatro cuadrantes los puntos obtenidos, tomando como referencia no sólo dos, sino aquellos cuatro OTU's de mayor distancia. La discriminación hacia el semiplano inferior y superior se realiza atendiendo a las distancias taxonómicas de los OTU's respecto a aquellos otros dos más distanciados taxonómicamente (Gráfica 11). Finalmente, un último modelo de representación gráfica que se propone es aquel en el que se combina tridimensionalmente las representaciones de BRAY & CURTIS modificada y el dendrograma. Con ello se pretende obtener una visualización

aún más significativa no sólo de la distribución de los OTU's respecto al conjunto analizado, sino de la agrupación de los mismos según la distancia taxonómica.



Gráfica 11. — Representación de las relaciones fenéticas según el método de BRAY & CURTIS modificado, utilizando como distancias al centro los valores de heterogeneidad total, entre 1: *P. lonchitis*; 2: *P. aculeatum*; 3: *P. setiferum*; 4: *P. braunii*; 5: *P. × illyricum*; 6: *P. × bicknelli*; 7: *P. setiferum* var. *atlanticum*; 8: *P. acrostichoides*; 9: *P. falcatum*; 10: *P. lonchitis* var. *nevadense*.

Conclusiones taxonómicas.— 1) Los OTU's correspondientes a la var. *atlanticum* de *P. setiferum* y a la var. *nevadense* de *P. lonchitis* presentan una gran similitud con los OTU's correspondientes a las variedades típicas de las especies. A pesar de que aquellas aparenten una distancia taxonómica suficiente para aceptar dicho rango, estas no resultan significativas puesto que el grado de variabilidad aceptado para las variedades típicas es tan amplio que la comparación del escaso margen de las desviaciones debían resolverse a distancias mayores. 2) De especial significación resulta la relativa similitud de *P. lonchitis* a *P. acrostichoides*, ratificándose el excelente valor fenético que presenta el carácter unipinnado de la fronde, tal como han coincidido en señalar los diversos autores que han tratado este género. 3) Por encima de la línea de fenon de 4'75 se establece un grupo constituido por *P. aculeatum*, *P. × bicknelli* y *P. × illyricum*. Esto nos indica que los híbridos presentan una mayor relación con el alotetraploide que con los parentales diploides respectivos. Este hecho puede deberse a la mayor variabilidad de *P. aculeatum*, capaz de intergradarse ampliamente con la presentada por los híbridos. 4) Los tres grupos comentados aparecen reunidos en un escaso margen de distancia taxonómica, constituyéndose (si exceptuamos a *P. acrostichoides*) el complejo *aculeatum*. Es necesario destacar que la primera unión se establece entre el grupo unipinnado (*P. lonchitis* y *P. acrostichoides*) y el grupo de *P. aculeatum* y los híbridos, al contrario de como cabía esperar la previa reunión de *P. setiferum* a este último grupo. 5) La adición tan lejana de *P. braunii* al conjunto anteriormente comentado reafirma la idea de la escasa relación de este con el grupo autóctono ibérico. 6) Tal como se señalaba en un principio, «*Cyrtomium falcatum*» constituye un elemento anómalo en el seno del género *Polystichum*. En cualquier caso, resulta aquí de un gran valor para mostrar como el carácter de la división de la lámina, aunque presenta un alto índice de discriminación, este no alcanza un grado de exclusividad.



Gráfica 12. — Representación tridimensional de las relaciones fenéticas, atendiendo al BRAY & CURTIS modificado y al dendrograma, (1: *P. lonchitis*; 2: *P. aculeatum*; 3: *P. setiferum*; 4: *P. braunii*; 5: *P. × illyricum*; 6: *P. × bicknelli*; 7: *P. setiferum* var. *atlanticum*; 8: *P. acrostichoides*; 9: *P. falcatum*; 10: *P. lonchitis* var. *nevadense*).

Clave de determinación de los táxones ibéricos

1. Lámina unipinnada 1. *P. lonchitis*
1. Lámina bipinnatifida (al menos en la zona proximal de las pinnas) o bipinnadas 2
2. Pinnas escasamente divididas pero al menos con un segmento o pínula proximal diferenciado; lámina estrechamente lanceolada, raramente de más de 10 cm de anchura; esporas abortadas 4. *P. × illyricum*
2. Pinnas profundamente segmentadas hásta casi la costa o bipinnatiséptas al menos en su mitad proximal; lámina de más de 10 cm de anchura 3
3. Pínulas claramente pecioladas, no decurrentes; anchura de la base de la lámina $\frac{1}{2}$ o más de la anchura máxima; soros situados en las terminaciones de las venas secundarias; esporas fértiles, con perisporio constituido por amplias crestas 2. *P. setiferum*
3. Pínulas adnatas o subadnatas, y si estas son netamente pecioladas entonces los esporangios son abortivos 4
4. Pínulas adnatas; lámina estrechándose gradualmente hacia la base, siendo esta $\frac{1}{3}$ o menos de la anchura máxima; soros situados en la mediación de las venas secundarias; esporas fértiles, con perisporio papiloso-cristulado 3. *P. aculeatum*
4. Pínulas subadnatas o pecioladas; soros situados generalmente en las terminaciones de las venas secundarias; esporas abortadas 5. *P. × bicknellii*

Índice nomenclatural de los táxones aludidos en el texto

1. *P. lonchitis* (L.) Roth, Tent. Fl. Germ. 3: 71 (1799).
Polypodium lonchitis L., Sp. Pl.: 1088 (1753) (basion.).
Aspidium lonchitis (L.) Swartz in J. Bot. Schrader 1800(2): 30 (1802).
Dryopteris lonchitis (L.) O. Kuntze, Rev. Gen. Pl. 2: 813 (1891).
Aspidium lonchitis var. *nevadense* Pau in Bol. Soc. Aragon. C. Nat. 8: 104 (1909).
2. *P. setiferum* (Forsskal) Woyнар in Mitt. Naturwiss. Vereines Steiermark 49: 181 (1913).
Polypodium setiferum Forsskal, Fl. Aegypt.-Arab.: 185 (1775) (basion.).
Aspidium angulare Willd., Sp. Pl. 5(1): 257 (1810).
Aspidium hastulatum Ten. in Atti Real Ist. Incorrag. Sci. nat. Napoli 5: 149 (1830).
Polystichum angulare (Willd.) C. Presl, Tent. Pterid.: 83 (1836).
Dryopteris aculeata subsp. *angularis* (Willd.) Maire in Jahandiez & Maire 1: 3 (1931).
3. *P. aculeatum* (L.) Roth, Tent. Fl. Germ. 3: 79 (1799).
Polypodium aculeatum L., Sp. Pl.: 1090 (1753) (basion.).
Polypodium lobatum Hudson, Fl. Angl.: 459 (1762).

- Aspidium aculeatum* (L.) Swartz in J. Bot. Schrader 1800 (2): 37 (1802).
- Aspidium lobatum* (Hudson) Swartz in J. Bot. Schrader 1800 (2): 37 (1802).
4. *P. × illyricum* (Borbás) Habne in Alig. Bot. Z. Syst. 10: 103 (1805) (*P. aculeatum* × *P. lonchitis*).
- Aspidium illyricum* Borbás, Osterr. Bot. Zeitschr. 41: 354 (1891) (basion.).
5. *P. × bicknellii* Christ ex Hahne in Allg. Bot. Z. Syst. 10: 103 (1905) (*P. aculeatum* × *P. setiferum*).
6. *P. braunii* (Spenner) Fée, Mem. Foug. 5: 278 (1852).
- Aspidium braunii* Spenner, Fl. Frib. 1: 9 (1825) (basion.).
- Dryopteris braunii* (Spenner) Und. apud Britt. & Brown, Fl. North U. S. 1: 15 (1896).
7. *P. acrostichoides* (Michx.) Schott, Gen. Fil.: 9 (1834).
8. *Cytomium falcatum* (L. fil.) C. Presl, Tent. Pterid.: 86 (1836).
- Polypodium falcatum* L. fil., Suppl.: 446 (1781) (basion.).
- Polystichum falcatum* (L. fil.) Diels, Nat. Pfl. 1: 194 (1899).

AGRADECIMIENTOS

Nuestro sincero agradecimiento a los Directores y Conservadores de los herbarios ARANZADI, BC, BCF, COI, FCO, G, GDA, GDAC, JACA, JAEN, LEB, MA, MAF, MGC, SALA, SANT, SEV, TFC, por habernos facilitado el material necesario para la realización del presente trabajo, y muy especialmente al Dr. S. CASTROVIEJO y D. F. MUÑOZ-GARMENDIA, editores de Flora Ibérica.

BIBLIOGRAFIA

- BRAY, J. R. & CURTIS, J. T. (1957) — An ordination of the Upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecol. Monograph*. 27: 325-349.
- COSTE, H. (1906) — Flore de la France. Paris.
- MANTON, I. (1950) — Problems of cytology and evolution in the Pteridophyta. Cambridge University Press.
- MANTON, I. & REICHSTEIN, T. (1961) — Zur Cytologie von *Polystichum braunii* (Spenner) Fée und seiner Hybriden. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 71: 370-383.
- PAGE, C. N. (1982) — The ferns of Britain and Ireland. Cambridge University Press.
- RADFORD, A. E. (1974) — Vascular Plants Systematics. New York.
- SLEEP, A. (1971) — *Polystichum* hybrids in Britain. *Brit. Fern Gaz.* 10: 208-209.

- SLEEP, A. & REICHSTEIN, T. (1967) — Der Farnbastard *Polystichum* × *meyerii* hybr. nov. = *P. braunii* (Spenner) Fée × *P. lonchitis* (L.) Roth und seine Cytologie. *Bauhinia* 3: 299-374.
- SOKAL, R. A. & MISCHENER, C. D. (1958) — A statistical method evaluating systematic relationships. *Univ. Kansas Sci. Bull.* 33: 1409-1438.
- SOKAL, R. A. & SNEATH, P. H. A. (1963) — Principles of numerical taxonomy. San Francisco.
- VALENTINE, P. H. (1964) — *Polystichum*. In Tutin, G. & Heywood, W. (Eds.) *Flora Europaea* 1: 20. Cambridge University Press.
- VIDA, G. (1966) — Cytology of *Polystichum* in Hungary. *Bot. Közlm.* 53: 137-144.
- VIDA, G. & REICHSTEIN, T. (1975) — Taxonomic problem in the ferns genus *Polystichum* caused by hybridization. In Walters, S. M. (Ed.) «European Floristic and taxonomic studies»: 126-135.
- WAGNER, W. H. (1979) — Systematics of *Polystichum* in Western North America, North of Mexico. *Pteridologia* 1: 6-64.

MA 3041; Puz de San Juan, IV.1961; a. (MA 3042); Puz de Bustamante, 10.VII.1952, s. a. (MAF 4454); Granada, Veleta, s. l., s. a. (MA 188409); Chorrera Negro, VIII.1952, Puz-Guz (MA 3041); Central del Yuma, VII. Clemente (MA 177155); Sierra Nevada, VII.1952, P. Salinas de Guaymas-Gil (MA 592); El Veleta, s. l., Clemente (MA 172767); Mulhacén, 30.VI.1950, G. López & Novillo (MA 22190); Laguna de las Y-guas, 28.VIII.1962, Ruiz de la Torre (MA 226284); Capizura, 8.IX.1978, Molero-Nave (MA 227847); Veleta, LIX.1965, Ruiz de la Torre (MA 226395); Sierra Nevada, s. l., s. a. (MA 226394); Capizura, XLV.1979, s. a. (MA 226378); Idem, LIX.1974, J. Molero-Nave (GDAP 10673); Idem, N.IX.1979, Molero-Nave (GDAP 10673); Idem, 24.VII.1974, Molero-Nave (GDAP 10673); Idem, 21.VIII.1978, Molero-Nave (GDAP 10673); Idem, 8.IX.1978, Molero-Nave (GDAP 10673); Sierra Nevada, s. l., s. a. (MA 593); Idem, s. l., Dolores (MA 592); Idem, s. l., Clemente (MA 177158); Idem, VIII.1952, s. a. (MA 594); Idem, s. l., s. a. (MA 188411); Idem, V.1960, Puz de Salgo (MGC 533); Idem, 15.VI.1974, H. Hernández & Gonda (MGC 533); Idem, 14.VI.1974, Brugada (MGC 544); Idem, 1957, Swartz (G 114); Idem, 24.VII.1951, Brugada (G 114); Idem, 1952, Swartz & Swartz (G 119); Idem, 1957, Dr. Condolle & Willkomm (G 120); Idem, VIII.1952, Puz (G 171) (solo el leucostictus var. *condollei* Typus); Idem, s. l., s. a. (MAF 44548); Idem, 23.VIII.1952, s. a. (MAF 44549); Idem, VII.1958, San-Guillermo (MAF 44847); Yuma, s. l., s. a. (MA 188409); Idem, s. l., Dolores (G 117); El Chorrillo, 15.VII.1951, Puz (MGC 534); Práncas de San Francisco, 11.VII.1974, Salvo (MGC 535); Idem, X.1974, Salvo (MGC 536); Idem, VII.1973, J. Puz (GDAC 1487); Idem, 1973, J. Puz (GDAC 1492); Idem, VII.1977, Salvo (SEV 7634); Idem, 24.VII.1951, H. Brugada (G 118); Idem, 1957, J. L. Guez-Tortosa (GDAP s. a.); Barranco de Monachil, VII.1978, Salvo (MGC 535); Minas de la Estrella, II.1977, Salvo (MGC

En este apartado se relacionan todo el material de los cinco tipos híbridos que ha servido de base para el presente trabajo, a fin de que sobre él pueda reconstruirse la distribución geográfica de los híbridos.



- BRAY, J. R. & CURTIS, J. T. (1957) -- An analysis of the United States flora. *Journal of Ecology*, **45**, 285-307.
- CHURCH, H. (1966) -- *Flora de la France*. Paris.
- MANTON, I. (1966) -- *Problems of cytology and evolution in the Prokaryotes*. Cambridge University Press.
- MERTON, I. & BUCHHEIM, T. (1961) -- Sur Cytologie des Populations hybrides (Espagne) *Flora and plant Hybrid. Soc. Scient. Bot. Soc.* **11**, 275-280.
- PAUL, C. N. (1962) -- *The ferns of Britain and Ireland*. Cambridge University Press.
- RABENOLD, A. E. (1971) -- *Vascular Plants of the United States*. New York.
- REAR, A. (1971) -- *Populus hybrids in Britain*. *Bot. J. Linn. Soc.* **10**, 201-208.
- WATSON, W. H. (1970) -- *Systematics of Populus in Western North America*. North of Mexico. *Phytologist*, **11**, 4-41.
- WATSON, W. H. (1971) -- *Systematics of Populus in Western North America*. South of Mexico. *Phytologist*, **12**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1972) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **13**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1973) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **14**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1974) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **15**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1975) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **16**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1976) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **17**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1977) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **18**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1978) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **19**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1979) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **20**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1980) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **21**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1981) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **22**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1982) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **23**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1983) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **24**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1984) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **25**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1985) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **26**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1986) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **27**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1987) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **28**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1988) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **29**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1989) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **30**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1990) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **31**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1991) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **32**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1992) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **33**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1993) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **34**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1994) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **35**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1995) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **36**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1996) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **37**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1997) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **38**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1998) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **39**, 1-11.
- WATSON, W. H. (1999) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **40**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2000) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **41**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2001) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **42**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2002) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **43**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2003) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **44**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2004) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **45**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2005) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **46**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2006) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **47**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2007) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **48**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2008) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **49**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2009) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **50**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2010) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **51**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2011) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **52**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2012) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **53**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2013) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **54**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2014) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **55**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2015) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **56**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2016) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **57**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2017) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **58**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2018) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **59**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2019) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **60**, 1-11.
- WATSON, W. H. (2020) -- *Systematics of Populus in Western North America*. Central Mexico. *Phytologist*, **61**, 1-11.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro sincero agradecimiento a los Directores y Conservadores de los herbarios ARANZABU, DC, SOP, GO, EYO, G, GDA, GJAC, JACA, JAFN, LER, MA, MAF, MOC, SALA, MONT, SEV, TFC, por habernos facilitado el material necesario para la realización del presente trabajo, y muy especialmente al Dr. W. CASTROVIEJO y D. F. MUÑOZ-GARRERÍA, editores de *Flora Ibérica*.

BIBLIOGRAFIA

- BRAY, J. R. & CURTIS, J. T. (1957) -- An analysis of the United States flora. *Journal of Ecology*, **45**, 285-307.
- CHURCH, H. (1966) -- *Flora de la France*. Paris.
- MANTON, I. (1966) -- *Problems of cytology and evolution in the Prokaryotes*. Cambridge University Press.
- MERTON, I. & BUCHHEIM, T. (1961) -- Sur Cytologie des Populations hybrides (Espagne) *Flora and plant Hybrid. Soc. Scient. Bot. Soc.* **11**, 275-280.
- PAUL, C. N. (1962) -- *The ferns of Britain and Ireland*. Cambridge University Press.
- RABENOLD, A. E. (1971) -- *Vascular Plants of the United States*. New York.
- REAR, A. (1971) -- *Populus hybrids in Britain*. *Bot. J. Linn. Soc.* **10**, 201-208.

ADDENDA: MATERIAL ESTUDIADO *

P. Ionchitis (Ver Mapa 1)

ESPAÑA: Almería: Sierra de Abrocena, 2.VII.1929, s. a. (MA 591).
 Burgos: Castrobalnera, VII.1954, *Losa* (BCF 313). Castellón: Barranco de la Fon, s. f., s. a. (MA 133138). Gerona: Nuria, VIII.1904, *A. Casares-Gil* (MA 588); *Ibidem*, 1870, *Barcinone* (MA 590); *Ibidem*, VII.1870, s. a. (MA 590); Puig de Sant Amac, IV.1981, *A. Ibars* (MGC 8164); Puig de Bastiments, 10.VII.1922, s. a. (MAF 44845). Granada: Veleta, s. f., s. a. (MA 158409); Chorreras Negras, VIII.1923, *Font-Quer* (MA 594); Corral del Veleta, VII, *Clemente* (MA 172758); Sierra Nevada, VII.1913, *F. Beltrán & Casares-Gil* (MA 592); El Veleta, s. f., *Clements* (MA 172757); Mulhacén, 20.VII.1980, *G. López & Morales* (MA 227307); Laguna de las Yeguas, 26.VIII.1966, *Ruiz de la Torre* (MA 226896); Capileira, 8.IX.1978, *Molero-Mesa* (MA 227627); Veleta, 1.IX.1966, *Ruiz de la Torre* (MA 226895); Sierra Nevada, s. f., s. a. (MA 226894); Capileira, 22.VII.1979, s. a. (MA 232876); *Ibidem*, 17.IX.1978, *J. Molero-Mesa* (GDAF 10672); *Ibidem*, 24.IX.1979, *Molero-Mesa* (GDAF 10673); *Ibidem*, 24.VII.1976, *Molero-Mesa* (GDAF 10675); *Ibidem*, 21.VIII.1979, *Molero-Mesa* (GDAF 10670); *Ibidem*, 8.IX.1978, *Molero-Mesa* (GDAF 10676); Sierra Nevada, s. f., s. a. (MA 593); *Ibidem*, s. f., *Beltrán* (MA 592); *Ibidem*, s. f., *Clemente* (MA 172758); *Ibidem*, VIII.1923, s. a. (MA 594); *Ibidem*, s. f., s. a. (MA 158411); *Ibidem*, V.1980, *Nieto & Salvo* (MGC 8353); *Ibidem*, 15.VI.1976, *M. Hernández & Conde* (MGC 3581); *Ibidem*, 15.VI.1976, *Zarazaga* (MGC 5434); *Ibidem*, 1837, *Boissier* (G 114); *Ibidem*, 24.VII.1851, *Bourgeau* (G 115); *Ibidem*, 1853, *Alioth & Boissier* (G 119); *Ibidem*, 1847, *De Candolle & Willkomm* (G 120); *Ibidem*, VIII.1908, *Pau* (G 121) (sub *A. Ionchitis* var. *nevadense*. Typus); *Ibidem*, s. f., s. a. (MAF 44848); *Ibidem*, 13.VII.1893, s. a. (MAF 44849); *Ibidem*, VII.1893, *Sanz-Gutierrez* (MAF 44847); Veleta, s. f., s. a. (MA 158409); *Ibidem*, s. f., *Delessert* (G 117); El Chorrillo, 15.VII.1981, *Nieto* (MGC 8391); Peñones de San Francisco, 11.VII.1976, *Salvo* (MGC 8361); *Ibidem*, X.1978, *Salvo* (MGC 8360); *Ibidem*, VII.1972, *J. Varo* (GDAC 3487); *Ibidem*, 1973, *J. Varo* (GDAC 1910); *Ibidem*, VII.1977, *Salvo* (SEV 70636); *Ibidem*, 24.VII.1851, *E. Bourgeau* (G 118); *Ibidem*, 1907, *J. L. Diez-Tortosa* (GDAF s. n.); Barranco del Monachil, VII.1978, *Salvo* (MGC 8358); Minas de la Estrella, II.1977, *Salvo* (MGC

* En este apartado se relaciona todo el material de los cinco táxones ibéricos que ha servido de base para el presente trabajo, a fin de que sobre él pueda reconstruirse la distribución corológica de los mismos.



83058); Carretera Veleta-Capileira, VII.1976, *Salvo* (MGC 83057); Dornajo, VII.1978, *Salvo* (GDAC 7139); *Ibidem*, VII.1977, *Salvo* (GDAC 7140); Barranco del Río Veleta, VIII.1977, *Salvo* (GDAC 7138); Peñones de San Francisco, I.VII.1968, *C. Morales* (GDAC 4198); Laguna de las Yeguas, 21.VII.1978, *B. Cabezudo & al.* (SEV 62245); Capileira, subida al Fraile, 20.VII.1935, s. a. (GDAF s. n.); *Ibidem*, 20.III.1935, *Cortés* (GDAF s. n.); Trevélez, 12.IX.1978, *J. Molero-Mesa* (GDAF 10675); *Ibidem*, 24.IX.1978,



Mapa 1. — Distribución de *P. lonchitis* en la Península Ibérica.

Molero-Mesa (GDAF 10671). Guipuzcoa: Katabera, Sierra de Aitzgori, 31.VIII.1980, *J. Loidi* (MGC 6835). Huesca: Hospital de Benasque, s. f., *E. Valdés-Bermejo & G. López-González* (MA 212984); *Ibidem*, 24.VII.1975, *Valdés-Bermejo & López-González* (MA 227111); *Ibidem*, s. f., s. a. (MA 534); Benasque, 24.VII.1975, *E. Valdés-Bermejo* (MA 227107); *Ibidem*, 9.VIII.1982, *J. A. Devesa* (SEV 78680); *Ibidem*, 23.VII.1975, *E. Valdés & al.* (MAF 95772); Bielsa, s. f., *Campo* (MA 158411); Candanchú, 2.VIII.1972, *Ron* (MA 193547); Valle de Tena, VIII.1881, *Zubilla* (MA 158410); Formigal, 12.VIII.1906, *A. Caballero* (MA 533); *Ibidem*, 20.VII.1980, *J. A. Devesa et al.* (SEV 158191); Panticosa, VIII.1918, *J. Aterido* (MA 133136); *Ibidem*, s. f., *Zubilla* (MA 158417); *Ibidem*, 13.VII.1882, s. a. (MA 158408); *Ibidem*, VIII.1879, *Zubilla* (MAF 44844); *Ibidem*, VIII.1915, *J. Mas-Guindal* (MAF 62766); *Ibidem*, 30.VI.1953, *Rivas-Goday* (MAF 82828); *Ibidem*, 6.V.1982, *Aizpuru & Catalán* (ARANDAZI); *Ibidem*, VII.1960, *Rivas-Goday & Rivas-Martínez* (MAF

72609); Ibidem, 2.V.1977, *Rivas-Martínez & Fernández-Casas* (BCF 7566); Ordesa, 22.VII.1927, *Ruiz de Azúa & Caballero* (MA 585); Ibidem, 18.IX.1978, *P. Montserrat* (JACA 1013); Ibidem, 21.VII.1927, *Ruiz de Azúa & A. Caballero* (BCF 312); Ibidem, 1.VII.1946, *Losa* (BCF 314); Ibidem, 12.VIII.1946, *Losa* (BCF 320); Ibidem, 13.VIII.1978, *P. & G. Montserrat* (JACA 335478); Ibidem, 4.VIII.1973, *E. Fuertes* (MGC 2594); Ibidem (MAF 92853); Ibidem, 23.V.1980, *Bellot & Casaseca* (SALA 64); Ansó 10.VIII.1968, *P. Montserrat* (JACA 3799); Ibidem, 13.VI.1971, *P. Montserrat* (JACA 733); Plan, 21.VIII.1980, *P. Montserrat* (JACA 4289); Ibidem, 16.VIII.1980, *P. Montserrat* (JACA 3996); Ibidem, 21.VIII.1980, *P. Montserrat* (JACA 422880); Ibidem, 16.VIII.1980, *P. Montserrat* (JACA 399680); Torla, 5.VIII.1971, *P. Montserrat* (JACA 5453); El Bozo, 19.VII.1967, *P. Montserrat* (JACA 2275); Ibidem (JACA 2470); Hecho, 29.VIII.1974, *P. Montserrat* (JACA 874); Ibidem, 21.VII.1965, *P. Montserrat* (JACA 471); Ibidem, 25.VII.1974, *L. Villar* (JACA 72574); Ibidem, 9.X.1972, *L. Villar* (JACA 183572); Ibidem, 26.VII.1977, *Amich et al.* (SALA 13300); Cotiella, Saravillo, 25.VIII.1979, *P. Montserrat* (JACA 4267); Lecherín, 22.VII.1967, *P. Montserrat* (JACA 387567); Aisa, 10.VIII.1968, *F. Montserrat* (JACA 3799); Saravillo, 25.VIII.1979, *Gómez & P. Montserrat* (JACA 426779); Laspuña, 23.VII.1980, *D. Gómez & P. Montserrat* (JACA 464980); Ibidem, 22.VII.1979, *D. Gómez & P. Montserrat* (JACA 240679); Sierra de Oza, 19.VII.1980, *Devesa et al.* (SEV 58190); Garganta de Aníscolo, 25.VII.1976, *Fernández-Galiano et al.* (SEV 26711); Ibidem, 10.VII.1982, *Aizpuru & Catalán* (ARANZADI); Candanchú, 5.VIII.1975, *P. Montserrat* (JACA 457975); Ibidem, Roquedo de Tobaró, 6.VIII.1947, *Rivas-Goday & Rivas-Martínez* (MAF 72609); Valle de Pineta, 2.VIII.1980, *J. Molero* (SALA 21762). Jaén: Sierra de Segura, 20.VII.1977, *Castroviejo & Valdés-Bermejo* (MA 226897). León: La Uña, 5.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2995); Puerto de Piedrafita, 30.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2994); Valverde de la Sierra, 12.VIII.1972, *P. Montserrat* (JACA 636472); Muria de Paredes, 7.VII.1976, *Losa-Quintana* (GDAF 14116); Puerto de Tarna, 26.VII.1979, *Casaseca et al.* (SALA 22390); Puerto de las Señales, 26.VII.1979, *Casaseca et al.* (SALA 22389); Ibidem, 26.VIII.1978, *E. Rico* (SALA 9280); Tambarón, 5.VII.1976, *Losa-Quintana* (MAF 100584); Bastanitz, 24.VIII.1967, *Losa-Quintana* (MAF 3253). Lérida: Salardú, 16.VII.1927, *Ruiz de Azúa & Caballero* (MA 587); Aigues-Tortes, 20.VII.1982, *Molero* (GDAF); Sorpe, 12.IX.1981, *L. Villar* (JACA 263881); Espot, 12.VII.1979, *B. Cabezero et al.* (SEV 41989). Madrid: Peñalara, VIII.1912, *F. Beltrán* (MA 584). Navarra: Isaba, 24.X.1971, *P. Montserrat* (JACA 1048); Ibidem (JACA 2567); Ibidem, 19.VIII.1979, *P. Montserrat* (JACA 557269); Ibidem, s. f., *P. Montserrat* (557269); Ibidem, 26.VII.1971, *P. Montserrat* (JACA 992); Ibidem, 22.X.1972, *P. Montserrat* (JACA 2046). Oviedo: Covadonga, 16.VII.1952, *Guinea* (MA 236727); Somiedo, VII.1977, *T. E. Diaz-González* (MGC 8354); Puerto de Ventana, 21.VII.1981, *J. Molero-Mesa et al.* (GDAF); Ibidem (GDAF 13697); Ibidem, 17.VII.1970, *M. Mayor* (SALA 7943); Fuente de la Naloma, 30.VI.1961, *Bellot & Casaseca* (SALA 65). Palencia: San Martín de los Herreros, 10.VIII.1972, *P. Montserrat et al.* (JACA 692272); Ibidem (MGC 8375). Santander: Aliva, s. f., s. a. (MA 164350); Ibidem, 18.VIII.1950, s. a. (MA 164852); Reinosa, VII, *Durán* (MA 595); Picos de Europa, s. f., *Baubier* (G 122); Ibidem (G 123).

Otro material estudiado

POLONIA: West Carpathian Mts, 5.VIII.1980, *Ozwonko* (MGC 7047); Ibidem, 27.IX.1952, *Myczkowski* (MGC 7170). ANDORRA: Andorra la Velha, s. f., *Losa & Montserrat* (BCF 4929). REINO UNIDO: Escocia, Bonlawer, 21.VIII.1972, *Molesworth* (MGC 5948). ALEMANIA: Hohe, Fisiul bei Runderstey, 14.VII.1898, *Touton* (MAF 44862). FRANCE: Val d'Entremont, Valais, Valsorey, 29.VII.1927 (MAF 48842). SUIZA: Kanton Waddtländer Alpen: Abbage im Vallée de Naut, VII.1901, *Kuhlmann & Wirtgen* (MAF 44869); Ibidem, VIII.1902, *Kuhlmann & Wirtgen* (MAF 44868); Ibidem, VIII.1901, *Kuhlmann & Wirtgen* (MAF 44867).

P. setiferum (Ver Mapa 2)

ESPAÑA: Alava: Monte Gorbea, 17.VII.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 512); Ibidem, 6.VII.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 946); Cuartajo, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 510); Ibidem, s. f., s. a. (MA 520); Montes Iturrieta, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 514); Santa Engracia, 29.VII.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 501); Monte Sopena, 9.VI.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 480); Ibidem, 9.VI.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 490); Ibidem (MA 517); Ibidem (MA 564); Bóveda, 20.VI.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 506); Monte Itzarrit, 1.VII.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 502); S.^a Bayana, 15.VI.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 486); Vitoria, 7.VI.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 493); Ibidem, 9.VIII.1966, *Molesworth* (MGC 5919); Montes Alzania, 8.IX.1975, *P. Montserrat* (JACA 592175); Lagrán, 17.VIII.1973, *P. Montserrat* (JACA 437673); Ibidem (JACA 437373); Ibidem (JACA 437443); Ibidem (JACA 437573); Ibidem (JACA 441773); Ibidem (MGC 8367); Ibidem (JACA 437773); Zuazo, 19.VIII.1966, *Molesworth* (SEV 5178). Badajoz: Borde de Arroyo de San Valdecaballero, 21.IV.1973, *Pérez-Chiscano* (MAF 84622). Barcelona: Barcelona, s. f., s. a. (MA 443); *Montserrat*, s. f., s. a. (MA 150167); Ibidem, s. f., s. a. (MA 228554); Tibidabo, s. f., s. a. (MA 504); Ibidem, 31.XII.1910, s. a. (MA 449); Ibidem, s. f., s. a. (MA 448); Ibidem, III.1923, s. a. (MA 550); Ibidem, IX, *Fdez.-Casas* (BCF 304); Ibidem, s. f., *Hno. Teodoro* (BCF 296); Ibidem, 6.IV.1924, s. a. (G 125); Ibidem, 6.X.1924, *F. Sennen* (G 128); Ibidem (G 126); Ibidem (G 127); Dosains, 30.VIII.1969, s. a. (BCF 6150); Montenegro, 19.IV.1949, s. a. (BCF); Ibidem, *P. Montserrat* (JACA 2449); Pineda del Mar, 13.IX.1976, *P. Montserrat* (JACA 184876); Mataró, 22.IX.1974, *L. Villar* (JACA 734474); Dos Rius, 30.VIII.1969, *P. Montserrat* (JACA 615069); Ibidem, 22.IX.1974, *P. Montserrat* (JACA 6345); Valgorquina, 9.VII.1979, *B. Cabezudo et al.* (SEV 41988); Tagamanet, 15.XI.1925, *Rivas Mateo* (MAF 44829). Burgos: Obarenses, VI.1912, *Hno. Elias Cáceres*: Navalvillar de Ibor, 29.VII.1968, *M. Ladero* (MA 205507); Ibidem (MA 227108); Ibidem, 26.VII.1968, *Ladero* (MAF 44986); Ibidem, 8.IV.1971, s. a. (MAF 80586); Ibidem, 26.VII.1968, *Ladero* (MAF 84046); Ibidem, 29.III.1968, *Ladero* (SALA 8875); Río Guadalupejo, 3.X.1978, s. a. (MA 227104); Ibidem, *Pérez-Chiscano* (SEV 56426); Baños de Montemayor, VII.1904, *C. Escribano & C. Vicioso* (MA 440); Villuercas, 17.V.1975, *Pérez-Chiscano* (MAF 92355); Valdecastillas, 28.V.1982, *E. Rico* (SALA 27154); Serradille, 16.VI.1981, *Ladero et al.* (SALA 23358); Ibidem, 25.VI.1978, Bel-

monte (MAF 105907); Guadalupe, 19.III.1971, *Rivas-Martínez et al.* (MAF 80573). Cádiz: Sierra del Cabrito, 26.III.1981, *Salvo* (MGC); Cortes de la Frontera, IV.1982, *Salvo* (MGC 8380); Garganta del Capitán, 2.V.1975, Díez (MGC 2897); Jerez, 1876, G. Mari (MAF 44822). Castellón: Alfondegilla, 10.IX.1905 (MA 442). Coruña: Santiago de Compostela, s. f., s. a. (MA 228499); *Ibidem*, 6.IV.1965, *Rivas-Martínez et al.* (MAF 81589); *Ibidem*, 5.IV.1965, *E. Valdés* (SEV 3220); *Ibidem*, 6.VIII.1972, *E. Valdés* (MAF 83199); Coruña,



Mapa 2. — Distribución de *P. setiferum* en la Península Ibérica.

IX.1904, s. a. (MA 159168); Ribeira del Río Eume, 11.V.1972, *Losa* (MAF 100585); La Baquera, 13.VIII.1976, *Horjales* (SALA 9265); Ribeira, 9.VII.1971, *Martos et al.* (COI 8-544); Carboeira, 17.V.1975, *Losa* (MAF 93641). Gerona: Montseny, 18.V.1922, *Sennen* (MA 163825); *Ibidem*, VII.1905, *Casares* (MA 446); *Ibidem*, 18.X.1922, *Sennen* (MA 444); Fenil de Gallerols, 18.X.1922, *Sennen* (MA 163824); *Ibidem*, 4.IX.1919, *Hno. Gonzalo* (G); *Ibidem*, IX.1947, *Hno. Gonzalo* (MAF 44827); Osor, 24.IX.1981, *Montserrat* (JACA 277981); Sant Hilari de Sacalm, 24.IX.1981, *P. Montserrat* (JACA 27581); *Ibidem* (JACA 275481); Sant Ariol, 10.VIII.1979, *Cabezudo et al.* (SEV 4956); Arbucias, 9.VII.1979, *Cabezudo et al.* (SEV 41987). Guipuzcoa: Vergara, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 556); *Ibidem* (MA 560); *Ibidem*, 24.IV.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 509); *Ibidem* (MA 497); Azpitia, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 555); *Ibidem*, 1.VII.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 563); Salinas de Léniz, 22.VII.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 511); *Ibidem* (MA 481); Besain, 26.VII.1926, *Ruiz de*

Azúa (MA 528); *Ibidem*, 27.VI.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 485); *Ibidem*, 26.VII.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 495); *Ibidem*, 27.VI.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 478); *Ibidem* (MA 565); San Sebastián, V, s. a. (MA 476); *Ibidem*, VIII.1904, *Escribano* (MA 475); Elosua-Azcoitia, 28.VI.1980, *Loidi* (MGC 8386); Gaintzurizketea-Artia, 28.IV.1983, *P. Catalán* (ARANZADI 517); Oyarzum: Alcibar, 14.V.1983, *P. Catalán* (ARANZADI 725); Hondarribia, 25.V.1983, *P. Catalán* (ARANZADI 882); Pasaia, s. f., *Aizpuru & Catalán* (ARANZADI 604); Irún, 8.VII.1982, *Aizpuru & Catalán* (ARANZADI); Barranco de Higuer, 21.IX.1982, *Aizpuru & Catalán* (ARANZADI 1366); Monte Itzarritz, 1.VII.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 27772). Huelva: Sierra de Aracena, 25.V.1979, *Rivera & Cabezudo* (MA 227727); *Ibidem*, 1.IV.1982, *Salvo* (MGC); *Ibidem*, VI.1979, *Cabezudo* (MGC 8418); *Ibidem*, 29.III.1980, *Silvestre & Cabezudo* (MGC 9080); *Ibidem* (SEV 45222); *Ibidem*, 27.III.1979, *Rivera & Cabezudo* (SEV 45026); *Ibidem*, 25.V.1979, *Rivera & Cabezudo* (SEV 45025); Santa Ana La Real, Alájar, 25.V.1979, *Rivera & Cabezudo* (MGC 9103). Huesca: Escuaín, 31.VIII.1978, *Montserrat* (Jaca 4024); *Ibidem* (JACA 4016); *Ibidem*, 31.VIII.1978, *Gómez* (JACA 402278); *Ibidem*, *P. Montserrat* (JACA 402178); *Ibidem* (MGC 8370); Valle de Añisclo, 29.IX.1979, *Montserrat* (JACA 4571); *Ibidem*, 17.VIII.1974, *Montserrat* (MGC 8369); *Ibidem*, 23.VII.1976, *Fdez.-Galiano* (SEV 26588); Benabarre, IX.1976, *Macia & Catalán* (BCF 589274); Gallisué, 17.VIII.1974, *Montserrat & Villar* (JACA 589274); *Ibidem* (JACA 589174); *Ibidem* (JACA 457174); Sierra de Ozaa, 19.VII.1980, *Devesa & al.* (SEV 55274); Panticosa, VIII, *Rivas-Mateo* (MAF 44779); Escuaín, 31.VIII.1978, *Gómez* (JACA 402278). León: Puerto de Pajares, 25.IX.1973, *López et al.* (MA 233717); Cofiñal, 5.VII.1981, *Pérez-Carro* (LEB 2972); Puerto de la Magdalena, VII.1976, *Pérez-Carro* (LEB 2971); Peña de la Vega, 9.VII.1974, *Hernández* (LEB 2969); Geras de Godrón, 7.VII.1981, *Pérez-Carro* (LEB 2990); Pantano de Bárcena, 9.VI.1983, *Pérez-Carro* (LEB); Busdongo, 15.VII.1981, *Pérez-Carro* (LEB 2978); Puerto del Pontón, 10.VI.1983, *Salvo et al.* (MGC). Lérida: Puerto de la Beragua, 12.VII.1979, *Cabezudo et al.* (SEV 41985). Logroño: San Millán de la Cogolla, 16.VIII.1981, *Castroviejo & Fdez.-Quirós* (MA 226901); Loreras del Barranco de Cambrones, 7.IX.1976, *Ladero & Pérez-Chiscano* (MA 205508); *Ibidem*, 7.VII.1976 (MAF 94816); *Ibidem* (SALA 8876); Rasillo de Cameros, VIII, *Iñiguez* (MA 158404); *Ibidem* (MA 155830); *Ibidem* (MA 158402); S^a de la Demanda, 26.VI.1979, *Varo et al.* (GDAC 7143). Lugo: Villardíaz, Fonsagrada, 7.VIII.1954, *Carreira* (MA 172774); *Ibidem* (G). Málaga: Sierra del Torcal de Antequera, 21.II.1985, *Carreira* (MGC); Cortes de la Frontera, 3.V.1975, *Díez* (MGC 2561). Navarra: Vera del Bidasoa, 13.V.1973, *Castroviejo* (MA 226899); *Ibidem* (MA 226898); Fuente del Río Araxes, 23.I.1979, *Montserrat* (JACA); Sierra de Urbasa, 23.VII.1971, *Valdés* (SEV 9745); Aranaz, 2.V.1983, *Catalán* (ARANZADI 455); *Ibidem*, 15.X.1983, *Aizpuru* (ARANZADI 1715); Embalse de Artikutza, 2.X.1982, *Catalán* (ARANZADI 1612); *Ibidem*, 26.VII.1982, *Catalán* (ARANZADI); Venta de Yance, 25.VIII.1982, *Aizpuru & Catalán* (ARANZADI); Lesaka, 31.V.1982, *Aizpuru & Catalán* (ARANZADI 214283). Orense: Sierra del Invernadeiro, VIII.1973, *Castroviejo* (MA 228544); *Ibidem*, VIII.1927, s. a. (MA 186628). Oviedo: Puerto de San Isidro, 28.IX.1973, *Valdés & López* (MA 228485); Camino del Naranco, 30.V.1917, s. a.

(MA 163738); Avilés, s. f., s. a. (MA 435); Puerto de Pajares, 2.VIII.1972, s. a. (MA 227204); *Ibidem*, 23.IV.1976, *Fdez.-Galiano et al.* (SEV 26569); *Ibidem* (SEV 125369); Gijón, VII.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 494); Brañes, 31.I.1983, *Díaz-González* (LEB 13066); *Ibidem* (LEB 13058); *Ibidem* (LEB 13059); *Ibidem* (LEB 13060); *Ibidem* (LEB 13061); *Ibidem* (LEB 13062); *Ibidem* (LEB 13054); *Ibidem* (LEB 13064); *Ibidem* (LEB 13065); *Ibidem* (LEB 13056); Luarca, 27.V.1971, *Montserrat* (JACA 210371); Tornín, 16.VII.1975, *Montserrat* (JACA 207975); Cangas de Onís, 16.VII.1975, *Montserrat* (MGC 8366); Lago de la Erceña, 30.VII.1978, *Talavera* (SEV 36157); Pantano del Nalón, 12.VII.1980, *Devesa et al.* (SEV 56500); Puerto de la Ventana, 3.VIII.1971, *Fernández-Galiano et al.* (SEV 12048); Grado, 22.VI.1835, *Durieu* (G); *Ibidem*, 23.VI.1971, *Lainz* (G); *Ibidem*, 22.VI.1935, *Durieu* (G); *Ibidem*, *Boissier* (G); Oviedo, 21.VI.1864, *Bougeau* (G); Vegadeo, 10.VII.1953, *Rivas-Goday* (MAF 83047); Belmonte, 28.III.1970, *Rivas-Goday* (MAF 83438). **Palencia:** Cervera del Pisuerga, VII.1951, *Casas* (BC 295); Puerto de Piedras Luengas, 13.VII.1980, *Devesa* (SEV 54353). **Pontevedra:** Moaña, 31.X.1969, *Castroviejo* (MA 233719); *Ibidem* (SALA 7006); Cangas de Morrazo, 1.XI.1969, *Castroviejo* (MA 198351); Marín, VIII.1934, *Albo* (MA 467); Porriño, 21.VII.1940, s. a. (MA 466); *Ibidem*, 5.IV.1978, *Casaseca* (SALA 12271). **Salamanca:** Villarino de los Aires, 4.VIII.1976, s. a. (MA 227103); *Ibidem*, 19.V.1976, *Sánchez* (SALA 17226); *Ibidem*, VIII.1979, *Sánchez* (SALA 17231); Aldelávilva, 12.V.1978, *Amich* (MA 227106); *Ibidem* (SEV 53364); *Ibidem* (SALA 15594); Las Batuecas, XI.1969, *Díez* (MGC 8387); Montemayor del Río, 12.V.1973, *Ladero* (MAF 94472); *Ibidem*, 22.V.1981, *E. Rico* (SALA 26295); Santibáñez de la Sierra, 18.VII.1978, *Fdez.-Díez* (SALA 12913); Sotoserrano, 2.III.1973, *Fdez.-Díez* (SALA 5191); Cepeda, 9.III.1973, *Fdez.-Díez* (SALA 7270); Masueco, 28.IV.1978, *Amich* (SALA 15594). **Santander:** Despeñafrailas, 24.VII.1922, *Hno. Elías* (MA 473); *Ibidem* (MA 474); *Ibidem* (G); Santander, s. f., s. a. (MA 155852); Saja, 12.III.1977, *Montserrat* (JACA 5977); Puerto Palombera, 20.III.1975, *Varo et al.* (GDAC 3505); *Ibidem* (GDAC 3507); Las Caldas del Besaya, 13.VIII.1970, *Charpin* (G); Molledo, VIII.1879, *Díaz Cueto* (MAF 44821). **Vizcaya:** Bedia, 25.VIII.1927, *Ruiz de Azúa* (MA 31); Vizcaya, s. f., *Lagasca* (MA 158432); *Ibidem*, *Clemente* (MA 234057); Dos Caminos, 3.I.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 547); *Ibidem* (MA 519); *Ibidem* (MA 470); *Ibidem* (MA 484); Vergara, s. f., s. a. (MA 155855); Galdácano, 16.VIII.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 496); *Ibidem*, 17.VIII.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 499); *Ibidem*, 23.II.1924, *Ruiz de Azúa* (MA 462); Durango, 7.I.1976, *Ruiz de Azúa* (MA 489); Begoña, 5.I.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 488); *Ibidem* (MA 498); Orchan-dinano, 4.IX.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 471); Cestona, 19.VII.1966, *Molesworth* (MGC 5918). **Zaragoza:** Moncayo, s. f., *Lázaro* (MAF 44527).

BALEARES: Mallorca: Sierra de Sóller (MA 514); *Ibidem* (MA 543); *Ibidem* (MA 455); *Ibidem* (MA 454); *Ibidem*, 10.VIII.1911, *Bianos & Sennen* (G).

PORTUGAL: Algarve: Monchique, 25.IV.1956, *Malato & Losa* (BCF); *Ibidem*, XII.1980, *Salvo* (MGC 8364); *Ibidem*, VIII.1882, s. a. (COI); *Ibidem*, VII.1892, *Brandeiro* (COI); *Ibidem*, VIII.1884, *Guimarães* (COI); *Ibidem*,

VII.1884, *Moller* (COI). **Alto Minho**: Viana do Castelo, 7.VIII.1958, *Oliveira* (COI); Monte do Castro, VIII.1883, *Vigueira* (COI). **Beira Alta**: Castelo de Paiva, 25.II.1896, *Salema* (COI); Sampaio de Gouveia, VII.1890, *Ferreira* (COI); Guarda, 17.IX.1954, *Fernandes & Matos* (COI); *Ibidem*, VII.1885, *Ferreira* (COI); Gouveia, 3.VI.1951, *Conceição* (COI); Eirol, Vale da Fonte, 12.VIII.1969, *Rocha* (COI); Serra da Estrela, 18.XI.1975, *Carreira & Cardoso* (COI). **Beira Baixa**: Mata do Fundão, 1904, *Favary* (COI); *Ibidem*, 1901, *Zimmerman* (COI). **Beira Litoral**: Angeja, s. f., s. a. (MA 271777); Coimbra, 15.XII.1962, *Bean* (COI); *Ibidem*, VI.1889, *Pinheiro* (COI); *Ibidem*, 14.XII.1962, *Bean* (COI); *Ibidem*, s. f., *Nogueira* (COI); *Ibidem*, V. 1894, *Lucas* (COI); *Ibidem*, V.1895, *Lopes* (COI); *Ibidem*, II.1958, *Fernandes* (COI); *Ibidem*, IX.1884, *Barros* (COI); *Ibidem*, III.1888, *Moller* (COI); Sierra de Pampilhosa, 1884, *Henriques* (COI). **Estremadura**: Pinhal de Leiria, VII.1917, *Guilherme Felgueiras* (COI); Sintra, 5.IV.1960, *Lourenço* (COI); Mafra, s. f., *Veiga* (COI). **Minho**: Serra do Gerês, 1959, *Malato* (BCF); Melgaço: San Gregório, VII.1894, *Moller* (COI); Braga: Bom Jesus, *Lauro* (COI); Serra do Gerês, V.1884, *Moller* (COI); Póvoa, 16.V.1885, *J. Cosme* (COI); Arcozelo: Barcelos, s. f., *Domingues* (COI). **Ribatejo**: Cartaxo-Ceira, 1.III.1960, *Feliciano* (COI). **Trás-os-Montes**: Sernancelhe: Cerra, VII.1860, *Marinha* (COI).

Otro material estudiado

CANARIAS: Tenerife: Monte del Agua, 14.VII.1901, s. a. (MA 462); Anaga, El Pijaral, 22.XI.1980, *Cabezudo* (MGC 12476); Monte de las Mercedes, s. f., *Socorro* (GDAC 4421); Anaga, 21.V.1979, *C. León & M. del Arco* (SALA 22163); Taganane, XII.1972, *Gil-Rodríguez* (TFC 18120); Monte del Pijaral, 21.V.1979, *León et al.* (TFC 18126), *Ibidem*, II.1972, *Gil-Rodríguez* (TFC 18122); Las Mercedes, II.1972, *Gil-Rodríguez* (TFC 18123); *Ibidem*, 15.II.1972, *Gil-Rodríguez* (TFC 18113); El Pijaral, 25-XI-1972, *Gil-Rodríguez* (TFC 18118); Ajur, XII.1972, *Gil-Rodríguez* (TFC 18121); El Portezuelo, II.1972, *Beltrán* (TFC 18117); Tahodio, II.1973, *Gil-Rodríguez* (TFC 18116); *Ibidem*, III.1968, *Santos* (TFC 18110). **La Palma**: Banco de Aduares, VI.1970, *Severo* (TFC 18119); Banco del Río: Cercanías de La Galería, 9.VI.1970, *Santos* (TFC 18111). **La Gomera**: El Cedro 13.II.1973, *Gil-Rodríguez* (TFC 18115); *Ibidem*, 23.II.1973, *Gil-Rodríguez* (TFC 18114). MADEIRA: Funchal, s. f., *Castle-Smith* (MGC 5912). MARRUECOS: Tetouan, Boureit Bad Béné, 29.V.1980, *Fernández-Casas* (MA 227600); Hafa-es-Sabbab (Beni-Hormar), 13.VIII.1930, *Font-Quer* (MAF 44774). FRANCIA: Corberés, 24.X.1883, s. a. (MA 456); *Ibidem*, 24.X.1883, s. a. (MAF 44833); Sartre Carace, VI, s. a. (MA 483); Port de Napoleon, 27.V.1979, s. a. (MA 347); Deux-Sèvres: Mazieres en Catine, 12.IX.1927, *Litardière* (BA 299); Supertarneges de Luchon, 10.VIII.1967, *Rivas-Martinez & Fdez.-Casas* (BCF 7564); Auberge Laugibar, 12.VII.1979, *Montserrat* (MGC 8368).

P. aculeatum (Ver Mapa 3)

ESPAÑA. Alava: Monte Gorbea, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 535); *Ibidem*, 12.IV.1927, *Ruiz de Azúa* (MA 544); *Ibidem*, 13.VIII.1927, *Ruiz de Azúa* (MA 552); *Ibidem*, VII.1925, *Ruiz de Azúa* (MA 545); *Ibidem*, s. f., *Ruiz de*

Azua (MA 557); *Ibidem*, IV.1927, *Ruiz de Azúa* (MA 549); *Ibidem*, s. f., *E. Guinea* (MA 233751); Monte Iturrieta, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 536); *Ibidem*, 13.VI.1928, *Ruiz de Azúa* (MA 566); *Ibidem*, 12.IX.1924, *Ruiz de Azúa* (MA 559); Vitoria, VIII.1927, *Ruiz de Azúa* (MA 568); Escalmendi, X.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 567); Monte Sopeña, VIII.1927, *Ruiz de Azúa* (MA 553); *Ibidem*, VIII.1927, *Ruiz de Azúa* (MA 564); Santa Engracia, 12.IV.1926, *Ruiz de Azúa* (MA 558); Lagrán, 17.VIII.1973, *P. Montserrat*



Mapa 3. — Distribución de *P. aculeatum* en la Península Ibérica.

& *L. Villar* (JACA 449373). **Almería**: Paterna del Río, VII.1963, s. a. (MA 227203); *Ibidem*, 22.II.1970, *Fdez-Casas* (MA 227203). **Avila**: Laguna del Duque, 15.VIII.1981, *E. Rico* (SALA 23838). **Barcelona**: Tibidabo, s. f., s. a. (MA 550); *Ibidem*, s. f., *Sennen* (G 104); *Ibidem*, VIII, *Hno. Teodoro* (G 92); *Montserrat*, s. f., s. a. (MA 228495); Barranco Fondo del Fangar, 5.VII.1951, *P. Montserrat* (JACA 151). **Burgos**: Obarenes, 27.IV.1930, s. a. (MA 531); *Ibidem*, s. f., s. a. (MA 241); *Ibidem*, 7.IV.1906, s. a. (MA 465); Monte Laño, s. f., *M. Losa* (MA 436); Quintanar y Urbión, VII, *M. Losa* (BCF 294); Hayedo del Río Trueba, 15. VII.1977, *P. Montserrat* (MGC 8371); San Millán, 11.VII.1981, *Guerra & Salvo* (MGC 8161); *Ibidem* (MGC 8160). **Cádiz**: Sierra del Aljibe, 1876, *G. Mari* (MAF 44823); *Ibidem* (MAF 44822). **La Coruña**: Santiago de Compostela, s. f., s. a. (MA 233728). **Gerona**: Rupit, 10.VI.1949, *P. Montserrat & Losa* (JACA 2149); Montseny, 18.X.1934, *F. Sennen* (G 95). **Granada**: Dehesa del Camarate, 6.IX.1971, s. a. (MA 227201); Sierra Nevada,

VIII.1927, *A. Caballero* (MA 438); *Ibidem*, 30.VII.1851, *E. Bourgeau* (G 109); *Ibidem*, *E. Bourgeau & E. Boissier* (G 113); Mulhacén, 20.VII.1980, *G. López* (MA 227416); Dehesa de San Jerónimo, 10.VII.1982, *Salvo & Iranzo* (MGC); Barranco Río Maitena, V.1977, *Salvo* (MGC 8352); *Ibidem* (MGC 8388); Hostal del Duque, VI.1978, *Salvo* (MGC 6488); Barranco del Río Veleta, X.1978, *Salvo* (MGC 6489); Peñones de San Francisco, VIII.1976, *Salvo* (GDAC 2371); *Ibidem*, VII.1972, *J. Varo* (GDAC 3495); *Ibidem*, VII.1973, *J. Varo* (GDAC 1905); *Ibidem*, I.VII.1968, *C. Morales* (GDAC 4173); *Ibidem*, VII.1972, *J. Varo* (GDAC 13687); El Charcón, XI.1977, *Salvo* (GDAC 7136); *Ibidem* (GDAC 7135); *Ibidem*, V.1978, *Salvo* (MAF 166802); Minas de la Estrella, II.1978, *Salvo* (GDAC 7142); Laguna de las Yeguas, 27.VI.1980, *J. A. Devesa & al.* (SEV 54356); Loma del Tanto, 26.VIII.1983, *Molero et al.* (MGC); Sierra Tejada, 25.VI.1879, *Delessier* (G 94). Guipuzcoa: Becafn, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 478); *Ibidem*, s. f., s. a. (MA 477); *Ibidem*, s. f., s. a. (MA 565); Vergara, VIII.1927, *Ruiz de Azúa* (MA 548); Salinas de Léniz, 22.XII.1925 *Ruiz de Azúa* (MA 479); *Ibidem* (MA 571); Zabalaitz, 17.VII.1980, *Loidi* (MGC 6836); Degurixa, 22.VI.1980, *Loidi* (MGC 6829); Fuenterrabía, 11.IV.1981, *Aizpuru & Catalán* (ARANZADI). Huesca: Ordesa, s. f., *Ruiz de Azúa & Caballero* (MA 532); *Ibidem*, 22.VII.1927, *A. Caballero* (MA 468); *Ibidem*, 26.VIII.1970, *P. Montserrat* (JACA 3260); *Ibidem*, 7.VIII.1945, *Losa* (BCF 290); *Ibidem*, 12.VIII.1949, *Losa* (BCF 289); Valle de Tena, s. f., *Zubilla* (MA 158405); Panticosa, s. f., *Marín* (MA 441); *Ibidem*, s. f., *Zubilla* (MA 155851); *Ibidem*, VIII, *S. Marín* (MA 441); *Ibidem*, 13.VII.1982, *Zubilla* (MA 158407); *Ibidem*, 19.VII.1974, *P. Montserrat* (MA 4050); *Ibidem*, VIII.1949, *Losa* (BCF 291); San Juan de le Peña, s. f., *A. González* (MA 226892); *Ibidem*, 23.V.1969, *P. Montserrat* (JACA 1575); *Ibidem*, 28.III.1969, *P. Montserrat* (JACA 511); *Ibidem*, 21.V.1972, *P. Montserrat* (JACA 1620); *Ibidem*, 18.VII.1947, *Losa* (BCF 288); *Ibidem*, 25.III.1969, *P. Montserrat* (JACA 47669); *Ibidem*, 23.IV.1972, *Fuertes & Ladero* (MA 83492); *Ibidem*, 23.IV.1972, *Fuertes & Ladero* (GDAF 6178); Bielsa, s. f., *Campo* (MA 158400); *Ibidem*, 1.VII.1973, *P. Montserrat* (JACA 248473); Las Eras, s. f., *P. Montserrat* (JACA 5661); *Ibidem*, 8.VIII.1971, *P. Montserrat* (JACA 566171); Valle de Añisclo, 26.VII.1965, *P. Montserrat* (JACA 637); *Ibidem*, 6.IV.1972, *P. Montserrat* (JACA 311); *Ibidem*, 2.VIII.1975, *P. Montserrat* (JACA 4409); *Ibidem*, 26.IX.1978, *P. Montserrat* (JACA 64965); *Ibidem*, 2.VIII.1975, *P. Montserrat* (JACA 446475); *Ibidem* (JACA 440975); Plan, 21.VIII.1980, *P. Montserrat* (JACA 4201); *Ibidem* (JACA 4231); *Ibidem*, 21.VIII.1980, *P. Montserrat* (JACA 420180); Oroel, 1.VII.1974, *P. Montserrat* (JACA 5047); *Ibidem*, 17.VII.1974, *P. Montserrat* (JACA 3999); *Ibidem*, 27.VIII.1968, *P. Montserrat* (JACA 6013); *Ibidem*, 1.VIII.1974, *P. Montserrat* (JACA 5048); *Ibidem*, 6.VII.1966, *P. Montserrat* (JACA); *Ibidem*, 17.VII.1974, *P. Montserrat* (JACA 401674); *Ibidem*, 27.VIII.1969, *P. Montserrat* (JACA 603469); Ansó, 5.VIII.1967, *P. Montserrat* (JACA 3304); *Ibidem* (JACA 3326); *Ibidem*, 5.VIII.1967, *P. Montserrat* (JACA 3325); *Ibidem*, 23.VII.1965, *P. Montserrat* (JACA 534); *Ibidem*, 5.VIII.1967, *P. Montserrat* (JACA 3326); *Ibidem*, 31.VIII.1973, *L. Villar* (JACA 538); *Ibidem*, 25.VII.1971, *P. Montserrat* (JACA 1920); *Ibidem*, 5.VIII.1967, *P. Montserrat* (JACA 532467); *Ibidem* (JACA 532867); *Ibidem*, 31.VIII.1973, *L. Villar* (JACA 53873); Jaca, 7.VII.1970, *P. Montserrat* (JACA

2968); Hecho, 17.VII.1967, *P. Montserrat* (JACA 2523); *Ibidem*, 18.VI.1972, *P. Montserrat* (JACA 506); *Ibidem*, 9.VII.1972, *P. Montserrat* (JACA 794); *Ibidem*, 23.IX.1969, *P. Montserrat* (JACA 694469); *Ibidem*, 17.VII.1967, *P. Montserrat* (JACA); *Ibidem*, 9.VII.1972, *L. Villar* (JACA 79492); *Ibidem*, 30.VIII.1977, *P. Montserrat* (JACA 163577); Gistain, 18.VIII.1970, *P. Montserrat* (JACA 5793); *Ibidem*, 18.VIII.1970, *P. Montserrat* (JACA 579370); Fornos, 14.VIII.1979, *P. Montserrat* (JACA 3783); *Ibidem* (JACA 3782); Ordesa, 9.VIII.1970, *P. Montserrat* (JACA 4914); Biescas, s. f., *P. Montserrat* (JACA 4137); *Ibidem*, 7.X.1969, *P. Montserrat* (JACA 7329); *Ibidem*, 21.VIII.1979, *P. Montserrat* (JACA 413779); Cueva de Aguas Limpias, 31.VII.1970, *P. Montserrat* (JACA 4481); Arañones, 24.IV.1969, *P. Montserrat* (JACA 725); Diostesalve, 30.VIII.1977, *P. Montserrat* (JACA 1635); Molina de Ansó, 6.IV.1972, *P. Montserrat* (JACA 311); Selva de Villanía, 25.VIII.1979, *P. Montserrat* (JACA 5892); Selva de Oza, 29.IV.1973, *P. Montserrat* (JACA 425); Escuin, 31.VIII.1978, *P. Montserrat* (JACA 4023); Hozas, s. f., *Losa* (BCF 297); Canfranc, 24.IV.1969, *P. Montserrat* (JACA 72569); Piedrafita de Jaca, 23.VIII.1975, *P. Montserrat* (JACA 567275); Peña de Oz, 20.VII.1978, *L. Villar* (JACA 239878); Río Aguas Limpias, 31.VII.1970, *P. Montserrat* & *L. Villar* (JACA 448170); Balneario de Panticosa, 19.VII.1974, *P. Montserrat* (JACA 405074); *Ibidem*, 13.VIII.1942, *Rivas-Goday* (MAF 92235); Valle de Ordesa, 5.VIII.1970, *P. Montserrat* (JACA 470270); Jana del Caballo, 9.VIII.1970, *P. Montserrat* (JACA 491470); *Ibidem*, 18.IV.1978, *P. Montserrat* (JACA 414678); Fanlo, 2.VIII.1975, *P. Montserrat* (JACA 432975); Peña Montañesa, s. f., *P. Montserrat* (JACA 240779); La Fortunada, s. f., *P. & G. Montserrat* (JACA 251181); Monte Oroel, 27.VIII.1969, *P. Montserrat* (JACA 504774); Torla, 15.VII.1968, *P. Montserrat* (JACA 213778); Peña Ezcaurri, 5.VIII.1967, *P. Montserrat* (JACA 532667); Canal de Izas, 14.XI.1974, *P. Montserrat* & *Villar* (JACA 595173); Ladera Norte Oroel, 6.VII.1966, *Puigdefabregas & Silvestre* (SEV 9185); Benasque, s. f., s. a. (MAF 44832); Selva de Oza 26.VII.1977, *Amich et al.* (SALA 13327); Aguas Tuertas, 26.VII.1977, *Amich et al.* (SALA 13328). Jaén: Torcal Linares, 23.VI.1983, *J. Herrera* (SEV). León: Geras de Godrón, 8.VI.1983, *E. Puente* (LEB); *Ibidem*, 7.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2983); *Ibidem* (LEB 2982); *Ibidem* (LEB 2981); Las Salas, 25.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2973); Puerto de Piedrafita, 30.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2993); *Ibidem* (LEB 2975); Busdongo, 15.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2992); *Ibidem*, (LEB 2976); Redilluela, 31.VII.1978, *M. J. López-Pacheco* (LEB 2970); Collada de Cármenes, 1.VIII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2991); *Ibidem* (LEB 2979); Valdoz, s. f., *J. Pérez-Carro* (LEB 2989); *Ibidem*, 5.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2984); La Uña, 5.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2987); *Ibidem*, 11.VIII.1981, *Díaz-González* (MGC 9054); Riaño, 5.VII.1981, s. a. (LEB 2986); Caldas de Luna, 11.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2980); Sorta de Valdeau, 26.VII.1981, *J. Pérez-Carro* (LEB 2974); Hoces de Valdeteja, 6.IX.1977, *M. J. López-Pacheco* (LEB 5); Valporquero, 20.X.1981, *Izco* (MAF 82204); Las Alperrierianas, s. f., s. a. (MA 569). Lérida: Bosque de Baricagua, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 546); Viella-Valle de Arán, VII.1927, *Ruiz de Azúa & Caballero* (MA 542); *Ibidem*, VIII.1938, s. a. (MA 551); *Ibidem* (MA 960); Valle de Arán, s. f., *A. Casares-Gil* (MA 540); *Ibidem*, 18.VII.1927, *Ruiz de Azúa* (SALA 27698); Salardú, s. f., *Ruiz de Azúa*

& Caballero (MA 452); *Ibíd.*, 17.VII.1927, *Ruiz de Azúa & Caballero* (MA 541); Lérida, s. f., *F. Muñoz-Garmendia* (MA 200); Valle de Espot, IX.1925, s. a. (MA 572); Rivera del Pequera, s. f., *Rothmaler* (MA 543); Boi, 1.VIII.1958, *P. Montserrat* (JACA 100858); Viella, 20.VII.1982, *Molero* (GDAF); Aigues-Tortes, 20.VII.1982, *Molero* (GDAF). **Logroño**: Puerto de Piqueras 8.VIII.1978, *F. Amich* (MA 227112); *Ibíd.* (SALA 13109); *Ibíd.*, 24.VI.1966, *P. Montserrat* (JACA 1029); Rasillo de Cameros, VIII, *M. Colmeiro* (MA 186629); *Ibíd.*, VIII, s. f. (MA 158402); Sierra de la Demanda, 26.VI.1979, *Varo et al.* (GDAC 7144). **Madrid**: Escorial (Batán), s. f., *A. Aterido* (MA 183139); Peñalara, VIII.1912, *F. Beltrán* (MA 421); *Ibíd.*, VI.1913, *F. Beltrán* (MA 422); Hayedos de Montejo de la Sierra, 29.IV.1969, *E. Valdés-Bermejo & Demetrio* (MA 125); *Ibíd.*, 24.IV.1969, *E. Valdés & Demetrio* (MA 228480); Sierra de Guadarrama, 20.X.1934, *M. L. Figueira & E. Carreira* (G 100); *Ibíd.*, VII.1869, s. a. (MAF 44780). **Málaga**: Sierra Tejeda, 23.I.1981, *Salvo* (MGC 7122); Puerto de los Pilonos, IV.1980, *Haro & Salvo* (MGC 6373); Sierra de Yunquera, 20.VII.1838, *Boissier* (G 137). **Navarra**: Isaba, s. f., *A. Barra & al.* (MA 235725); *Ibíd.*, 29.IV.1971, *P. Montserrat* (JACA 132); *Ibíd.*, 3.VIII.1967, *P. Montserrat* (JACA 50767); *Ibíd.*, 27.VIII.1973, *L. Villar* (JACA 45973); *Ibíd.*, 17.VIII.1971, *L. Villar* (JACA 181571); Aralar, 2.VII.1965, *P. Montserrat* (JACA 395); Baraibar, 2.VII.1965, *P. Montserrat* (JACA 39565); Entre Betelu y Aspiroz, 23.I.1979, *P. Montserrat* (JACA 379); Artikutza, 24.VII.1982, *Aizpuru & Catalán* (ARANZADI). **Oviedo**: Oviedo, s. f., *Lagasca & Cavanilles* (MA 181874); Peña Ubiña, s. f., s. a. (MA 570); *Ibíd.*, 22.VII.1981, *Molero Mesa et al.* (GDAF 13687); Carretera de los lagos, 15.VIII.1951, s. a. (MAF 236744); Puerto de San Isidro, 28.IX.1973, *E. Valdés & G. López* (MA 228483); *Ibíd.* (MA 228485); Somiedo, Lago Calbarra, VII.1977, *T. E. Diaz* (MGC 8355); Puerto de Ventana, 21.VII.1981, *Molero* (GDAF 13084); Pico de Arvás, 13.VIII.1835, *Boissier & Durieu* (G 111); *Ibíd.* (G 112); *Ibíd.* (G 107). **Santander**: Toranzo, s. f., *Salcedo* (MA 181873); Vertiente Norte del Puerto Palombera, 25.IV.1982, *A. Barra* (MA 233238); Puerto de las Estacas de Trueba, 26.IV.1982, *A. Barra* (MA 232254); Del Castro de Pas, s. f., *Salcedo* (MA 232573); Santander, s. f., s. a. (MA 115852); Cuesta del Escudo, 17.IX.1872, s. a. (G 1100); Despeñafrailas, 12.VII.1922, *Hno. Elias* (G 9899); Cervatos, 19.VII.1971, *Bellot & Casaseca* (SALA 66). **Segovia**: Puerto de la Quesera, IX, *E. Valdés* (MA 228496); *Ibíd.*, VII, *Fuertes et al.* (MA 229555); *Ibíd.*, s. f., *Valdés* (MA 228493); San Ildefonso, La Granja, s. f., *Reyes* (MA 469); *Ibíd.*, s. f., s. a. (MA 150156); *Ibíd.*, s. f., *Lagasca* (MA 155853); Pinar de la Pimpollada, VIII.1819, s. a. (MA 228493); Cercedilla, s. f., *F. Beltrán* (MA 528); *Ibíd.* (MA 529); Siete Picos, 22.VI.1924, *Rivas-Mateo* (MAF 44825). **Soria**: Urbión, s. f., *Losa & Caballero* (MA 530); Puerto Piqueras, 14.V.1973, *S. Castroviejo* (MA 226900); Valle de la Razón, 3.III.1958, *P. Montserrat* (JACA 426); Laguna Negra, 20.VIII.1978, *Molero & Salvo* (GDAF); Tortosa, s. f., *Font-Quer* (MA 539). **Teruel**: Albarracín, s. f., *Zapater* (MA 537); Castelserás, s. f., *Loscos* (MA 437). **Vizcaya**: Gorbea, s. f., s. a. (MA 164903); *Ibíd.*, 12.VII.1934, s. a. (MA 164902); *Ibíd.*, s. f., s. a. (MA 233751); Galdácano, s. f., *Ruiz de Azúa* (MA 561); Bakio, VIII.1947, *E. Guinea* (MA 233734); Sastegui, 25.VII.1942, s. a. (MA 233727); Archondo, s. f., s. a. (MA 228499);

Urberagua, s. f., *Zubía* (MA 158406); Roncesvalles, 14.VI.1972, *B. Molesworth* (MGC 5938); Algorta, s. f., s. a. (MAF 44776). Zaragoza: Ruadelango, VI.1948, *Losa* (BCF 294).

PORTUGAL: Ribeira del Pisões, 22.IV.1968, *Borja* (MAF 78413).

Otro material estudiado

CANARIAS: Tenerife: Monte de las Mercedes (MA 163823). FRANCIA: Bagnères de Luchon, 2.VIII.1967, *Rivas-Martínez & Fdez-Casas* (BCF 7566); Corberes, 24.X.1883, s. a. (MAF 44833). ALEMANIA: Segnes, 18.VIII.1894, *Touton* (MAF 44802); Bergsrape, 1902, *Müller* (MAF 44838); Vogesen, 21.VIII.1910, *Touton* (MAF 44807); Westuler des Schiersrollrierte Weilers, 23.VIII.1910, *Touton* (MAF 44806); Nassau, 26.V.1912, *Touton* (MAF 44834); Granbrüeren, VIII.1899, *Touton* (MAF 4480). SUIZA: Waadt, IX.1902, *Wilezek* (MAF 44819); Rheinpereugseu, 26.X.1896, *Zuritgen* (MAF 44840); Mot. Bouglia bei Pregassona, 2.IV.1900, *Ziritgen* (MAF 44816); Campiglio, 12.VIII.1968, *Telt* (MAF 44784). POLONIA: West Carpathian, 27.IX.1952, *Myczkowski* (MGC 7169). GRAN BRETAÑA: Pertshire, 22.VII.1972, *Molesworth* (MGC 5929), Flintshire, 17.V.1966, *Valdés* (SEV 6525).

P. × illyricum (Ver Mapa 4)

ESPAÑA: Granada: Sierra Nevada, Loma del Tanto, 26.VIII.1983, *Molero* (MGC). Huesca: Hecho, 23.IX.1969, *Montserrat* (JACA 6944); San Juan de la Peña, 25.IV.1969, *Montserrat* (JACA 474); Canfranc, 24.IV.1969, *P. Montserrat* (JACA 72769); *Ibidem*, 14.XI.1973, *Montserrat & Villar* (JACA 595073); Panticosa, 29.VIII.1972, *Villar* (JACA 723472); Cotiella, 14.VIII.1979, *Montserrat* (JACA 385879); Torla, 19.VIII.1971, *Montserrat* (JACA 645771); Valle de Ordesa 13.VIII.1978, *P. & G. Montserrat* (JACA 338678). Navarra: Larra, 5.VIII.1973, *Asensi* (MGC 28); *Ibidem*, 12.VII.1983, *Aizpuru & Villar* (ARANZADI 214283); *Ibidem*, 1.VIII.1969, *Montserrat* (MGC 8372); Isaba, 19.VIII.1969, *Montserrat* (JACA 563569). Oviedo: Somiedo, VII.1977, *Díaz* (MGC 8356).

Otro material estudiado

ANDORRA: Ensagents, 2.VIII.1948, *Losa & Montserrat* (BCF 4928). ALEMANIA: Weissunstein, 21.VII.1911, *Stalberg* (MAF 44790); Cunt, X. 1905, *Boun* (MAF 44813).

P. × bicknelli (Ver Mapa 5)

ESPAÑA: Alava: Sierra de Cantabria, Lagrán, s. f., *Montserrat & Villar* (JACA 411873). Barcelona: Hayedo en Les Guilleries, 10.VI.1949, *Montserrat* (JACA 2249). Burgos: Sierra de la Demanda, VI.1979, *Salvo* (MGC 5706). Castellón: Ahín, V.1981, *Costa & Iranzo* (MGC 7798). Huesca: Sierra de Guara, Nocito, 16.VI.1974, *Montserrat* (JACA 2794); Escuaín,



Mapa 4. — Distribución de *P. x illyricum* en la Península Ibérica.



Mapa 5. — Distribución de *P. x bicknelli* en la Península Ibérica.

31.VIII.1978, *Montserrat* (JACA 4023); Ansó, 5.VIII.1967, *Montserrat* (JACA 532367); *Lafortunada*, 14.VIII.1979, P. & G. *Montserrat* (JACA 378179). **Logroño:** Puerto de Piqueras, 24.VI.1966, *Montserrat* (JACA 102966); Sierra de la Demanda, 10.VII.1981, *Salvo* (MGC 8162). **Navarra:** Roncal, 27.VI.1974, *Villar* (JACA 26074); Isaba, 5.V.1971, *Villar* (JACA 19971). **Oviedo:** Brañes, 31.I.1983, *Díaz* (LEB 12968); Puerto de Somiedo, 12.VII.1981, *Pérez-Carro* (LEB 2985). **Soria:** La Poveda, 10.IX.1969, *Segura* (JACA 787569); Valle de la Razón, 3.VII.1958, *Montserrat* (JACA 42658).

Otro material estudiado

FRANCIA: Saint-Andre-L'Herbetot, 1.XI.1975, s. a. (MAF 97541).

SUMMARY

Material characteric and ecological data about fifteen interesting ferns are given. They have been collected in the Iberian peninsula after the survey of the present author's home range of distribution of *Polystichum* species with reference to previous records. Generalized descriptions and notes are included. They are related to the studies made in the National MA and MAI herbaria and to the population of the ecological characteristics of *Polystichum* species.

INTRODUCCION

Los bosques en altura de abetos (*Abies guineensis* (L.) Gaertn.) en la región Mediterránea de la Península Ibérica se sitúan preferentemente en el Occidente peninsular (concentraciones coreológica Mediterránea Iberocántica, Rivas-Martínez, 1983). Desde el punto de vista geográfico se distribuyen en las cuencas hidrográficas de los ríos Duero, Tago, Guadiana, Guadalquivir, Guadalquivir, Guadalquivir, etc. En estos bosques un género desarrollado sobre sustratos pobres en bases y cuya característica ecológica fundamental es haberse en contacto con un flujo continuo de agua. El estudio de estos bosques nos ha permitido detectar una serie de especies de distribución atlántica que se restringen en los ambientes umbrosos de este tipo de bosques. En el presente

STUDY OF THE EFFECTS OF VITAMIN B₁₂ DEFICIENCY ON THE
CENTRAL NERVOUS SYSTEM. (M. J. COOPER, M.D., and
J. H. WATSON, M.D., University of California, San
Diego, Calif.) (Abstracts, *Journal of the American
Medical Association*, 1957, 163: 1000-1001.)

Other medical conditions

FRANKLIN, J. H. and N. S. KATZ, M.D. (MAY 1957)



Map showing the distribution of the disease in the region of the study.

DATOS DE INTERÉS COROLÓGICO SOBRE ALGUNOS TÁXONES DEL OCCIDENTE DE LA PENÍNSULA IBÉRICA

por

D. SÁNCHEZ-MATA

Dep. Botánica. F. Farmacia. U. Complutense. Madrid

&

V. DE LA FUENTE GARCIA

Dep. Botánica. F. Ciencias. U. Autónoma. Madrid

Recibido el 31 Enero de 1986.

SUMMARY

Several chorologic and ecologic data about fifteen interesting taxa are given. They have been collected in the Spanish riparian alder tree forests of the Occident peninsula. Some maps of distribution of *Carex paniculata* subsp. *lusitanica*, *C. pendula*, *Osmunda regalis* and *Scrophularia scorodonia* are included. They are founded in the studied sheets of the Herbaria MA and MAF correspondents to the populations of the chorological superprovince Mediterráneo-Iberoatlántica.

INTRODUCCION

LOS bosques ribereños de alisos [*Alnus glutinosa* (L.) Gaertner] en la region Mediterránea de la Península Ibérica se sitúan preferentemente en el Occidente peninsular (superprovincia corológica Mediterráneo-Iberoatlántica, RIVAS-MARTINEZ, 1982). Desde el punto de vista geográfico se distribuyen en las cuencas hidrográficas de los ríos Duero, Tajo, Guadiana, Guadalquivir, Guadalete, Barbate, etc. Se trata de bosques en galería desarrollados sobre sustratos pobres en bases y cuya característica ecológica fundamental es hallarse en contacto con un flujo continuo de agua.

El estudio de estos ecosistemas nos ha permitido detectar una serie de especies de distribución atlántica que se refugian en los ambientes umbrosos de este tipo de bosques. En el presente

trabajo aportamos algunos datos de interés corológico y ecológico sobre algunas de ellas.

Queremos resaltar la especial fragilidad de los ecosistemas riparios en general y en particular de las alisedas. Actualmente, por desgracia, se encuentran muy alteradas y hoy en día quedan refugiadas en las cuencas altas de los ríos (gargantas, cabeceras, etc.) o en lugares de difícil acceso.

Para la realización de los mapas de distribución que ilustran este trabajo sólo se ha tenido en cuenta el material revisado por nosotros depositado en los herbarios MA y MAF correspondiente a las poblaciones de la superprovincia corológica Mediterráneo-Iberoatlántica (RIVAS-MARTINEZ, *op. cit.*). En ellos se han incluido las localidades que aportamos. De todas las poblaciones reseñadas para cada taxon, como propias, se aporta su localización mediante coordenadas UTM (cuadrícula de 10 km de lado). De éstas se han depositado testimonios en el Herbario MAF.

Carex paniculata L. subsp. **lusitanica** (Schkuhr) Maire in Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord. 20: 205 (1929).

AVILA: Entre La Adrada y Piedralaves, pista florestal del Charco de la Hoya, alisedas en «El vagón», 700 m, 30TUK 66, 12-V-1985, D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente (MAF 121207); Arenas de S. Pedro, S. Pedro de Alcántara, alisedas con avellanos en el arroyo de la Avellaneda, 610 m, 30TUK 25, 1-IV-1985, D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente (MAF 120834, 120835); Navalguijo, alisedas umbrosas en la garganta de los Caballeros, 1150 m, 30TUK 86, 3-IV-1985, V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata (MAF 120972); Navarredonda de Gredos, Arroyo de Prado Viejo, comunidades vivaces junto a acequias de riego de prados de siega (*Magnocaricion*), 1570 m, 30TUK 26, 28-VII-1985, D. Sánchez-Mata (MAF 121187); Valle del Tiétar, entre Piedralaves y Lanzahita, alisedas umbrosas en la garganta de las Torres, 470 m, 30TUK 45, D. Sánchez-Mata (MAF 121102, 121103); Valle del Tiétar, entre Ramacastañas y Mombeltán, alisedas umbrosas en un arroyo emisario del río Ramacastañas, 740 m, 30TUK 25, 18-VII-1985, D. Sánchez-Mata (MAF 121186); Tormellas, alisedas en la garganta de los Caballeros (arroyo Veredillas), 1800 m, 30TUK 86, 3-IV-1985, V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata (MAF 120973). CACERES: Macizo de las Villuercas, Fresnedoso de Ibor,

alisedas en el río Ibor, 400 m, 30STJ 89, 12-VI-1985, *D. Sánchez-Mata, V. de la Fuente & C. Navarro* (MAF 121208). SALAMANCA: Miranda del Castañar, alisedas umbrosas en un arroyo servidor del río Alagón, 690 m, 29TQE 58, 4-IV-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 120987).

Taxon de amplia distribución en las provincias corológicas Carpetano-Ibérico-Leonesa y Luso-Extremadurensis. Es propio tanto de alisedas como del complejo de comunidades de grandes cárices que las sustituyen u orlan (*Magnocaricion*). Ocasionalmente puede hallarse en prados muy higrófilos. Recientemente han sido publicadas varias poblaciones abulenses procedentes de la vertiente septentrional de la Sierra de Gredos y de la Sierra de Tormantos (RICO, 1985; 420). De la Sierra de Gredos hemos encontrado poblaciones testimoniadas con anterioridad (Avila: Sierra de Gredos, Hoyos del Espino, 10-VI-1962, *M. Mayor*, MAF 115447).

En la figura 1 se han señalado las localidades con testimonios en los herbarios MA y MAF.

Carex pendula Hudson, Fl. Angl.: 352 (1762).

CACERES: Macizo de las Villuercas, Guadalupe, alisedas en el río Guadalupejo, 400 m, 30STJ 96, 12-VI-1985, *V. de la Fuente, D. Sánchez-Mata & C. Navarro* (MAF 121209); Losar de la Vera, alisedas en un arroyo servidor del río Tiétar, 630 m, 30TK 84, 28-IV-1985, *V. de la Fuente* (MAF 120977). CADIZ: Entre Facinas y Ojén, alisedas en un arroyo emisario del río Almodóvar, 30STF 60, 6-VII-1985, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 121179). CIUDAD REAL: Sierra Madrona, Solana del Pino, alisedas en el río Robledillo, 520 m, 30SUH 05, 8-VII-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121176). SALAMANCA: Santibañez de la Sierra, alisedas umbrosas en el Puente Alagón, 610 m, 30TTK 58, 4-VI-1985, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 120974).

Especie frecuente en las alisedas de las Sierras de Aracena (Huelva. RIVERA & CABEZUDO, 1985: 77), macizo de Guadalupe-Villuercas (Cáceres), Sierra Madrona (Ciudad Real) y en las sierras gaditanas (v. s.; GIL & al., 1985: 118). *Carex pendula* alcanza el Norte de Africa (*Iter maroccanum*, *Font Quer*, MA 17569, 17570, MAF 07400).

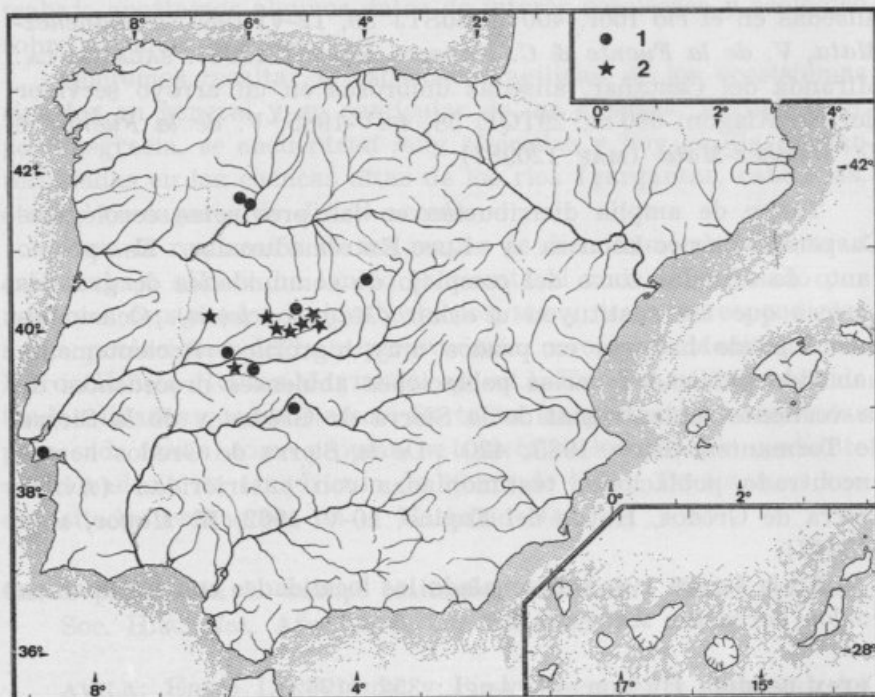


Fig. 1. — Mapa de distribución de *Carex paniculata* subsp. *lusitanica* en la superprovincia Mediterráneo-Iberoatlántica (según testimonios de los herbarios MA y MAF). 1. Testimonios anteriores.
2. Testimonios propios.

En la figura 2 se han reseñado los testimonios de los herbarios MA y MAF de este taxon. Su presencia en las alisedas de Sierra Madrona amplia el área de distribución del mismo en el occidente peninsular.

Carex remota L., Fl. Angl.: 24 (1754).

AVILA: Valle del Tiétar, entre La Adrada y Piedralaves, alisedas en el río Escorial (presa de La Pinara), 640 m, 30TUK 56, 13-V-1985, D. Sánchez-Mata (MAF 121203). HUELVA: Sierra de Aracena, entre Hinojales y Cortelazor, ailsedas umbrosas en un emisario de la Rivera de Huelva, 430 m, 29SQC 00, 4-VII-1985, V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata (MAF 121160, 121161); Ibidem, entre Galaroza y La Nava, alisedas en el río Murtiga, 500 m,

29SPC 00, 4-VII-1985, V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata (MAF 1211210).

Interesante taxon del que, en el Sistema Central, ya habían sido detectadas algunas poblaciones (hayedo de Montejo de la Sierra, S. Rivas-Martínez, MAF 104377; Retiendas (Guadalajara), V. de la Fuente, MAF 118868). Otros testimonios interesantes revisados son: Salamanca (Montemayor del Río, S. Rivas Goday & al., MAF 87447, Herguijuela de la Sierra, Fdez. Casas & al., MAF 90782) y Cáceres, Jerte, Amich & al., MAF 112022; CASASECA & al. (Flora Española, segunda centuria: 24. Salamanca 1981). En Portugal está ampliamente distribuida desde el río Miño hasta la Beira Baixa (M. DA SILVA, 1948: 93; R. FERNANDES, 1949: 127).

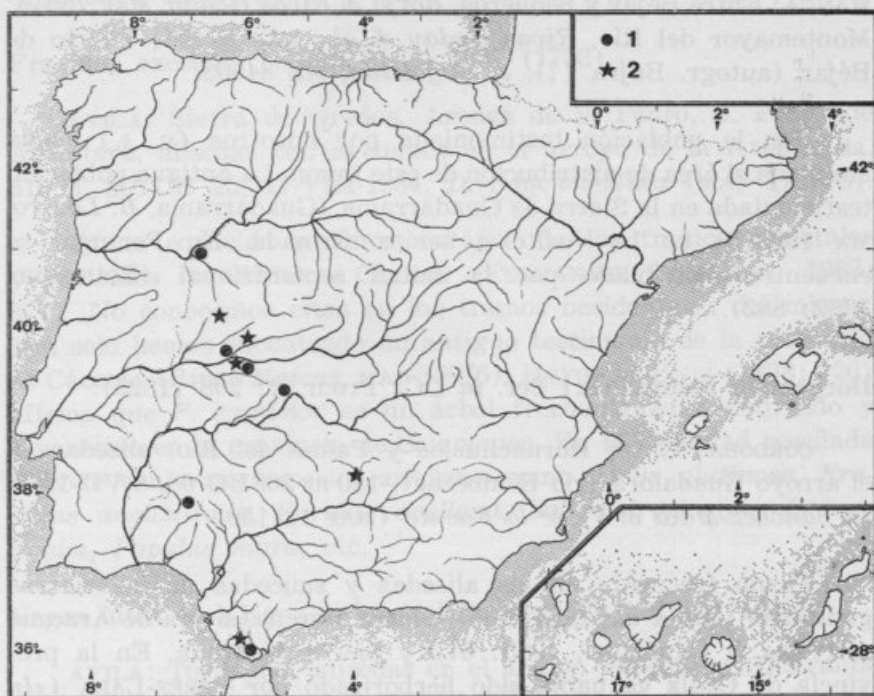


Fig. 2. — Mapa de distribución de *Carex pendula* en la superprovincia Mediterráneo-Iberoatlántica (según testimonios de los herbarios MA y MAF). 1. Testimonios anteriores. 2. Testimonios propios.

Circaea lutetiana L., Sp. Pl. 1: 9 (1753) subsp. *lutetiana*.

AVILA: Valle del Tiétar, entre Ramacastañas y Mombeltrán, alisedas umbrosas en un arroyo emisario del río Ramacastañas, 740 m, 30TUK 25, 18-VII-1985, D. Sánchez-Mata (MAF 121188).

Interesante taxon de distribución holártica (SKVORTSOV, 1979: 886). Para el occidente peninsular español conocemos las siguientes localidades: BADAJOZ: Cabeceras de valle en Monesterio y Calera de León (RIVAS GODAY, 1964: 550). CACERES: Baños de Montemayor, A. Caballero (MA 84502); Sierra de Gata, Rivas Mateos, MAF 19876; Hervás, S. Rivas Goday, MAF 79109, MT; Ribera del río Jerte, M. Carrasco & S. Castroviejo, MAC 6681 (in CARRASCO, 1981: 39). CIUDAD REAL: Cabecera del río Valdeazores (Valdeazogues), comarca de Despeñaperros (RIVAS GODAY, l. c.). SALAMANCA: Entre Béjar y Sequeros, Borja & Rivas Goday, MAF 76640; Montemayor del Río, Rivas Goday & al., MAF 87454; Puerto de Béjar (autogr. Bajra (?), J. Cogolludo, MA 84503).

Con la población testimoniada por nosotros (v. s.) queda ampliada el área de distribución de este taxon. La antigua población testimoniada en la Sierra de Guadarrama (Guadarrama, B. Lázaro, MA 162375) no ha vuelto a ser confirmada. En Portugal se encuentra distribuido por la mitad septentrional (BOUFFORD, 1982: 882).

Dorycnium rectum (L.) Ser. in DC., Prodr. 2: 208 (1825).

CORDOBA: Entre Hornachuelos y Palma del Río, alisedas en el arroyo Guadalora (río Bembézar), 180 m 30SUG 08, 8-VII-1985, D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente (MAF 121159).

Taxon frecuente en las alisedas y saucedas de las sierras gaditanas (GIL & al., 1985: 105), Sierra Morena, sierra de Aracena (RIVERA & CABEZUDO, 1985: 67) y Sierra Madrona. En la provincia de Cádiz ya había sido herborizado por PÉREZ-LARA («*In humidis, in Dehesa de la Gordilla ditionis Jerez*», MAF 38669). La antigua referencia a poblaciones procedentes de la Sierra de Guadarrama (Guadarrama, VII-1892, Mas Guindal, MAF 64288) no ha vuelto a ser confirmada.

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray, Man. Bot. North. U. S.: 631 (1848).

SALAMANCA: Candelario, alisedas umbrosas con abedules en el río Cuerpo de Hombre, 970 m, 30TTK 67, 15-V-1985, D. Sánchez Mata & V. de la Fuente (MAF 121010, 121011).

Con la población detectada ampliamos notablemente el área de distribución de este interesante pteridófito. Se confirma así su presencia en el Sistema Central, puesta en duda hasta ahora por FRASER-JENKINS (1982: 275). Este mismo autor (1982: 280) adjudica a este taxon las poblaciones procedentes del macizo Guadalupe-Villuercas s. l. (*M. Ladero*, MAF 80575 y 80592; *M. Costa*, MAF 110076). SALVO, *al. & cols.*, (1984: 124) en su magnífico atlas de la pterifolora ibérica y balear tampoco recogen este taxon en el Sistema Central.

Fraxinus excelsior L., Sp. Pl. 2: 1057 (1753).

AVILA: Sierra de Gredos, Arenas de S. Pedro, S. Pedro de Alcántara, alisedas con avellanos en el arroyo de la Avellaneda, 610 m, 30TUK 25, 17-VIII-1984, D. Sánchez-Mata (MAF 118293).

Taxon conocido como espontáneo de los tramos orientales y centrales del Sistema Central (FERNANDEZ GONZALEZ, 1983: 377). No conocemos citas en los tramos occidentales del mismo. Tan solo hemos encontrado un antiguo testimonio de la provincia de Cáceres (*Rivas Mateos*, MAF 35976). HOYOS DE ONIS (1898: 120) afirma que *F. excelsior* es un árbol frecuentemente cultivado y favorecido en la provincia de Salamanca. En la localidad reseñada convive con otras especies arbóreas como *Alnus glutinosa*, *Fraxinus angustifolia*, *Corylus avellana*, *Salix atrocinerea*, *Prunus avium*, *Populus nigra*, etc.

Gagea lutea (L.) Ker-Gawler in Bot. Mag. 30: t. 1200 (1809).

AVILA: Tormellas, alisedas en el arroyo Veredillas (Garganta de los Caballeros), 1080 m, 30TUK 86, 3-IV-1985, V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata (MAF 120981, 120982).

Anteriormente había sido herborizada en la provincia de Cáceres (Serradilla, *Rivas Mateos*, MAF 34328).

Ilex aquifolium L., Sp. Pl. 1: 125 (1753).

AVILA: Valle del Tiétar, entre Guisando y El Hornillo, alisedas umbrosas en el río de Riocuevas, 720 m, 30TUK 15, 1-IV-1985, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 120825). CACERES: Jerte, Garganta Becedas, alisedas en un arroyo emisario del río Jerte, 920 m, 30TTK 86, 4-IV-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 120978).

Taxon solo detectado, por nosotros, en los valles de los ríos Jerte y Tiétar.

Luzula sylvatica (Hudson) Gaudin subsp. **henriquesii** (Degen) Pinto da Silva in Agron. Lusit. 12: 359 (1950).

AVILA: Navalguijo, alisedas umbrosas en la Garganta de los Caballeros, 30TUK 85, 3-IV-1985, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 120971). SALAMANCA: Miranda del Castañar, alisedas umbrosas en un arroyo emisario del río Alagón, 690 m, 29TQE 58, 4-IV-1985, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 120997, 120998); Candelario, alisedas umbrosas con abedules en el río Cuerpo de Hombre, 970 m, 30TTK 67, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121046).

Taxon anteriormente citado en el Sistema Central de la Sierra de Béjar (AMICH & al., 1981: 163) del que damos a conocer las poblaciones mencionadas. Anteriormente habían sido detectadas poblaciones en la Sierra de Guadarrama (pinar de El Paular, Pau, MA 19641 sub *L. maxima* DC. raza *paularensis*: material tipo de *L. sylvatica* Gaudin var. *paularensis* Pau in Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat. 15: 158. 1916; C. Vicioso, MA 19634 sub *L. maxima* var. *paularensis*). Alcanza el sector Ibérico-Soriano (SANCHEZ SANCHEZ & al., 1982: 496). Además hemos encontrado testimonios procedentes del macizo de Guadalupe-Villuercas (*Rivas Mateos*, MAF 30521) y de la provincia de León (Osedo, *Losa Quintana*, MAF 100572). VALDES FRANZI (1983: 199) la cita en las alisedas de la Sierra de Gata.

Myosotis alpestris F. W. Schmidt, Fl. Boëm. 3: 26 (1794).

AVILA: Entre Piedrahita y el puerto de la Peña Negra, bordes de regatos umbrosos, 1340 m, 30TUK 07, 21-V-1982, *D. Sánchez-*

Mata & al. (MAF 113709, 113710). SALAMANCA: Candelario, alisedas umbrosas con abedules en el río Cuerpo de Hombre, 970 m 30TTK 67, 15-V-1985, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 120986).

Taxon raro en el centro y occidente peninsular del que solo hemos encontrado las poblaciones mencionadas.

Osmunda regalis L., Sp. Pl. 2: 1065 (1753).

AVILA: Valle del Tiétar, Casavieja-Mijares, alisedas umbrosas en la garganta del arroyo de la Robledosa (*Scrophulario-Alnetum*), 740 m, 30TUK 46, 13-V-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121050, 121051); Ibidem, Piedralaves-Lanzahita, alisedas umbrosas en la garganta de las Torres, 470 m, 30TUK 45, 14-V-1985, *D. Sánchez-Mata* (MAF 121092); Sierra de Gredos, entre Ramacastañas y Mombeltrán, alisedas en el río Ramacastañas («El Amoclón»), 430 m, 30TUK 25, 14-V-1985, *D. Sánchez-Mata* (MAF 121205); Entre Cuevas del Valle y Mombeltrán, alisedas umbrosas con avellanos en el río del Herradero, 740 m, 30TUK 26, 18-VII-1985, *D. Sánchez-Mata* (MAF 121185); Entre Arenas de S. Pedro y Poyales del Hoyo, alisedas fragmentarias en el río Pelayo (*Scrophulario-Alnetum*), 20-V-1982, *D. Sánchez-Mata & al.* (MAF 114627). CACERES: Aldeanueva de la Vera, alisedas en la garganta de los Guachos, en un arroyo servidor del río Tiétar, 670 m, 28-V-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 120994, 120995); Valdastillas, alisedas en un arroyo servidor del río Jerte, 540 m, 28-IV-1985, *V. de la Fuente* (MAF 120988). CADIZ: Sierra del Jabato, entre el puerto de Galis y Ubrique, alisedas en el río Barranco de Barrida (Mojón de la Víbora), 550 m, 30STF 75, 5-VII-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121194). CIUDAD REAL: Sierra Madrona, Fuencaliente, alisedas en el río Puebla, 680 m, 30SUH 85, 8-VII-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121177). GUADALAJARA: Retiendas, alisedas en el río Jarama hacia la presa de El Vado, 860 m, 30TVL 73, 13-VIII-1985, *V. de la Fuente, D. Sánchez-Mata & al.* (MAF 121202). SALAMANCA: Riomalo de Abajo, alisedas umbrosas en el río Ladrillar, 29-V-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 120975); Miranda del Castañar, alisedas en un arroyo servidor del río Alagón, 400 m, 23-IV-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 120983).

Taxon subcosmopolita que caracteriza las alisedas mediterráneo-Iberoatlánticas peninsulares siendo más abundante hacia el occidente en los pisos termo y mesomediterráneo. En la figura 3, donde se recogen las poblaciones testimoniadas en los herbarios MA y MAF (región Mediterránea, superprovincia Mediterráneo-Iberoatlántica), se observa como la vía de penetración de este taxon hacia el interior se realiza por las cuencas de los ríos que recorren los diferentes sistemas montañosos (Sierra de Aracena, Sierra Morena, Sierra Madrona, Montes de Toledo y Sistema Central s. l.). La población encontrada en el río Jarama (subsector Ayllonense, v. s.) es, por el momento, la más oriental de la provincia corológica Carpetano-Ibérico-Leonesa y novedad para la provincia de Guadalajara en el estado de nuestros conocimientos. Consideramos de notable interés esta nueva cita en el Sistema Central por ampliar la ya dada por MORENO & FERNANDEZ GONZALEZ (1983: 391).

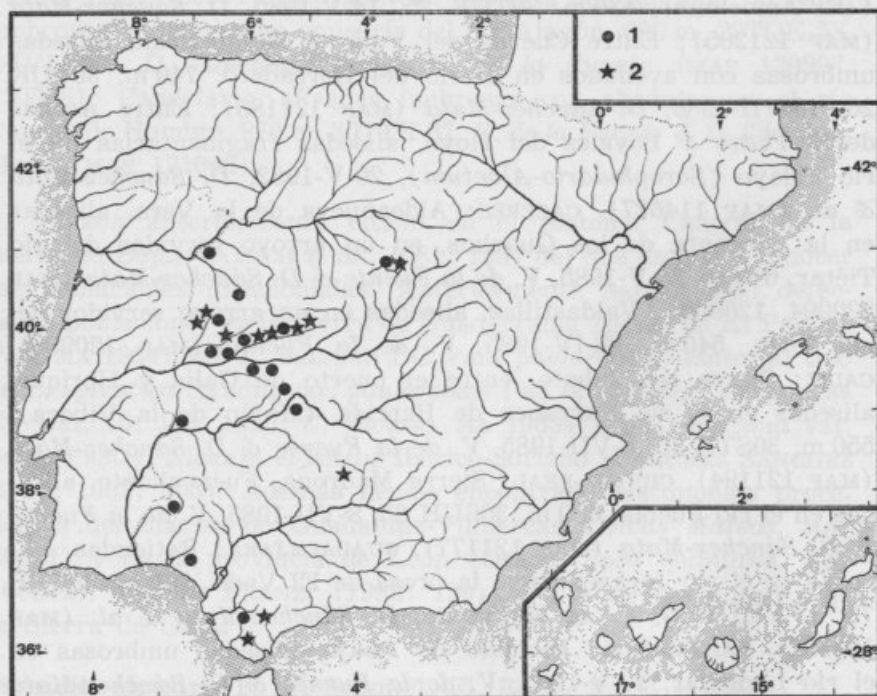


Fig. 3.— Mapa de distribución de *Osmunda regalis* en la superprovincia Mediterráneo-Iberoatlántica (según testimonios de los herbarios MA y MAF). 1. Testimonios anteriores. 2. Testimonios propios.

Ranunculus aconitifolius L., Sp. Pl. 1: 551 (1753).

SALAMANCA: Candelario, alisedas umbrosas con abedules en el río Cuerpo de Hombre, 970 m, 30TTK 67, 15-V-1985, D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente (MAF 120984, 120985); *Ibidem*, 22-IV-1985 (MAF 121206).

Ampliamos notablemente el área de este taxon del que sólo hemos comprobado testimonios de herbario procedentes de la provincia de León (puerto Ventana, *Amich & al.*, MA 231009; Puerto de Tarna, *F. Llamas*, MAF 116219) y de la Sierra de Guadarrama (macizo de Peñalara, VIII-1912, *C. Vicioso & Beltrán*, MA 39604 sub *R. aconitifolius* var. *platanifolius* f. *penyalarensis* Pau; *In rupestribus apricis Sierra de Guadarrama, Peñalara*, 2300 m, 11-VIII-1912, *C. Vicioso & Beltrán*, MA 39603 sub *R. aconitifolius* var. *penyalarensis* Pau: materiales tipo de *R. aconitifolius* var. *penyalarensis* Pau in *Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat.* 14: 209. 1915).

HOYOS DE ONIS (1898: 109, s.) cita esta especie del sur de la provincia de Salamanca (...«principalmente en la Sierra de Gredos»). Muy probablemente se refiriera a poblaciones de la Sierra de Béjar-Candelario. De la dehesa de Candelario ha sido recientemente indicado como «1ª cita después de 1900» por HERRERO & AMICH (in *Anales Jard. Bot. Madrid* 42 (2): 514. 1986).

Ranunculus acris L. subsp. **despectus** Láinz in *Bol. Soc. Brot.*, sér. 2, 53: 36 (1979).

GUADALAJARA: Entre Hiendelaencina y Villares de Jadraque, alisedas umbrosas en el río Bornova, 980 m, 30TVL 95, 12-VII-1985, V. de la Fuente, D. Sánchez-Mata & al. (MAF 121181, 121182).

Scrophularia scorodonia L., Sp. Pl. 2: 620 (1753).

S. herminii auct. hisp. plur. non Hoffmanns. & Link in *Fl. Port.* 1: 266 (1813).

S. reuteri auct. plur. non Daveau in *Bol. Soc. Brot.* 10: 169 (1892).

AVILA: Sierra de Tormantos, entre Navatejares y La Nava del Barco, alisedas, 1100 m, 30TTK 86, 3-VII-1985, V. de la

Fuente & D. Sánchez-Mata (MAF 121196); Entre La Parra y Arenas de S. Pedro, 30TUK 25, 29-VII-1984, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 118306). CACERES: Losar de la Vera, alisedas en un arroyo servidor del Tiétar, 630 m, 30TTK 74, 28-V-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 120991); Macizo de Guadalupe-Villuercas, Guadalupe, alisedas en el río Guadalupejo, 400 m, 30STJ 96, 12-VI-1985, *V. de la Fuente, D. Sánchez-Mata & C. Navarro* (MAF 121200); Valle del Jerte, Valdastillas, alisedas umbrosas en un arroyo en garganta servidor del río Jerte, 540 m, 4-IV-1985, 30TTK 54, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121195). CADIZ: Entre el puerto de Galis y Alcalá de los Gazules, alisedas en arroyos servidores del río Majaceite, 300 m, 30STF 64, 5-VII-1958, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121180). CIUDAD REAL: Sierra Madrona, Fuen-caliente, alisedas en el río Puebla, 680 m, 30SUH 85, 8-VII-1985, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 121177); Solana del Pino, alisedas en el río Robledillo, 520 m, 30SVH 05, 8-VII-1985, *V. de la Fuente & Sánchez-Mata* (MAF 121198). CORDOBA: Sierra Morena, entre Hornachuelos y Palma del Río, alisedas en el río Guadalora (río Bembézar), 160 m, 30SUG 08, 7-VII-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121199). SALAMANCA: Candelario, alisedas umbrosas com abedules en el río Cuerpo de Hombre, 970 m, 30TTK 67, 15-V-1985, *D. Sánchez-Mata & V. de la Fuente* (MAF 121201); Miranda del Castañar, alisedas umbrosas en un arroyo servidor del río Alagón, 690 m, 29TQE 58, 4-IV-1985, *V. de la Fuente & D. Sánchez-Mata* (MAF 121001).

Taxon de acusado matiz atlántico frecuente en las alisedas mediterráneo-ibero-atlánticas más occidentales. En la figura 4 se han reseñado las poblaciones testimoniadas en los herbarios MA y MAF, siendo las más orientales, por los datos actuales, las procedentes de Sierra Madrona. GIL & al. (1985: 112) en el catálogo florístico de las sierras de Algeciras recogen únicamente una cita bibliográfica del taxon que comentamos (*in* RIVAS GODAY & al., 1963: 239). Además de la localidad que aportamos (*v. s.*) la hemos inventariado en las alisedas de los ríos de la Sierra de Ojén. En estas localidades también es frecuente que conviva con *Scrophularia laevigata* Vahl (*S. laxiflora* Lange).

Scrophularia scorodonia L. ha sido frecuentemente confundida con *S. herminii* Hoffmanns. & Link (*S. bourgaeana* Lange) y

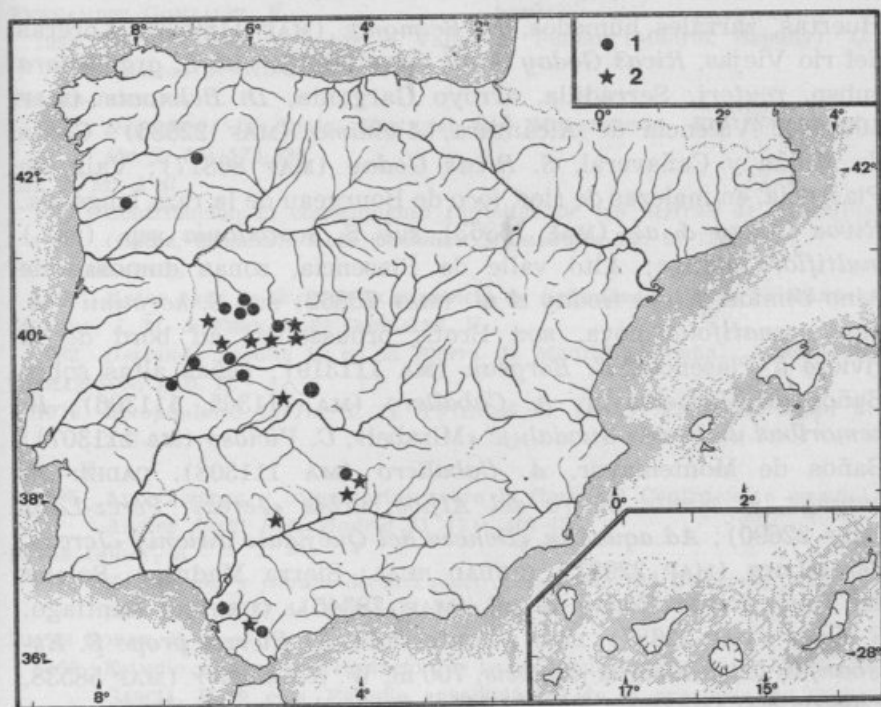


Fig. 4. — Mapa de distribución de *Scrophularia scorodonia* en la superprovincia Mediterráneo-Iberoatlántica (según testimonios de los herbarios MA y MAF). 1. Testimonios anteriores. 2. Testimonios propios

con *S. reuteri* Daveau (*S. herminii sensu* Lange in Willk. & Lange non Hoffmanns. & Link) a pesar de sus claras diferencias tanto morfológicas como ecológicas (RICHARDSON, 1972: 217). Los caracteres que separan a *S. scorodonia* de las mencionadas son: brácteas similares morfológicamente a las hojas, pedicelos florales más de tres veces tan largos como el caliz en la antesis, lóbulos calicinos de (3,5)-4 mm con margen escarioso menor de 1 mm de ancho y cápsula entre 5-8 mm de largo. Después de estudiar el material depositado en los herbarios MA y MAF adjudicamos a *S. scorodonia* las siguientes poblaciones:

AVILA: Entre Navatejares y La Nava del Barco, alisedas, 1100 m, *S. Rivas-Martínez & al.* (MAF 114095); Tremedal, comunidades de aguas fluyentes en lechos de arroyos, 1500 m, *S. Rivas-Martínez & al.* (MAF 114094). CACERES: Serrejón, arroyo de las

Huertas, zarzales húmedos, *D. Belmonte* (MAF 116923); Loreras del río Viejas, *Rivas Goday & al.* (MAF 95910) sub *S. grandiflora* subsp. *reuteri*; Serradilla, arroyo Garganta, *D. Belmonte* (MAF 109964); Valencia de Alcántara, *Anónimo* (MAF 22686); Casas de Millán y Cañaveral, *S. Rivas Goday* (MAF 86817); Valle de Plasencia, en malezas de ríos, loco de Bourgeau de la raza langeana, *Rivas Goday & al.* (MAF 76863) sub *S. scorodonia* ssp. (var.) *multiflora* Lange; Alto valle de Plasencia, zonas dumosas de Alno-Ulmion, *Rivas Goday & al.* (MAF 76862) sub *S. herminii* var. *dupli-crenatifolia* nova, non Brot.; broussailles au bord de la rivière à Plasencia, *E. Borgeau* (MA 111319); peñas altas sobre Baños de Montemayor, *A. Caballero* (MA 111305, 111306); *In nemoribus umbrosis Guadaluje* «Mirabel», *C. Vicioso* (MA 111307); Baños de Montemayor, *A. Caballero* (MA 111308). CADIZ: *In humidis, in monte Sierra del Aljibe, urbis «Jerez», Pérez-Lara* (MAF 22690); *Ad aquas in «Dehesa del Quejigal» ditionis «Jerez», Pérez-Lara* (MAF 22981). CIUDAD REAL: Sierra Madrona, Solana del Pino, *Rivas Goday & al.* (MAF 78345). CORUÑA: Santiago, *E. Quer* (MAF 22687). LEON: Ponferrada, *El Bierzo, prope S. Esteban, in locis humidis dumosis, 700 m, W. Rothmaler* (MAF 58538, 22685). SALAMANCA: Entre Béjar y Vallejera, *J. Borja* (sub *S. herminii*, MAF); Cabeceras de valle cerca de Sequeros, *J. Borja & al.* (MAF 95138); Garganta de Béjar y Baños de Montemayor, *C. Pau* (MA 198572). TOLEDO: Charcas de Navahermosa, *A. Velasco* (MAF 99601).

PORTUGAL: Leonte, Sierra de Gerês, *S. Rivas Goday* (MAF 79379).

BIBLIOGRAFIA

AMICH, F. & al.

- 1981 Sobre «*Delphinium sordidum* Cuatrec.» y otras aportaciones a la flora del occidente del Sistema Central español. *Anales Jard. Bot. Madrid* 38 (1): 153-164.

BOUFFORD, D. E.

- 1982 The Systematics and evolution of *Circaea* (Onagraceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 69: 804-994.

CARRASCO, M. A.

- 1981 Notas florísticas del Valle del Jerte (Cáceres). *Trab. Dep. Botánica F. Veg.* 11: 33-47.

FERNANDES, R.

- 1949 Notas sobre a Flora de Portugal, I. *Mem. Soc. Brot.* 5: 119-157.

- FERNANDEZ GONZALEZ, F.
1983 Notas florísticas sobre el Valle del Paular (Madrid, España), II. *Lazaroa* 4: 375-378.
- FRASER-JENKINS, C. R.
1982 *Dryopteris* in Spain, Portugal and Macaronesia. *Bol. Soc. Brot.*, sér. 2, 55: 175-336.
- GIL, J. M. & al.
1985 Contribución al conocimiento florístico de las Sierras de Algeciras (Cádiz, España). *Acta Botanica Malacitana* 10: 97-122.
- HOYOS DE ONIS, F.
1988 *Notas para la flora de la provincia de Salamanca*. 166 p. Salamanca.
- MORENO, J. M. & FERNANDEZ GONZALEZ, F.
1982 *Osmunda regalis* L. en la Sierra de Madrid (España). *Lazaroa* 4: 1-10.
- RICHARDSON, I. B. K.
1972 *Scrophularia* L. In: T. G. TUTIN & al. (eds.). *Flora Europaea* 3: 216-220.
- RICO, E.
1985 Aportaciones y comentarios sobre la flora del Centro-oeste español. *Anales Jard. Bot. Madrid* 41 (2): 407-423.
- RIVAS GODAY, S.
1964 *Vegetación y flórua de la cuenca extremeña del Guadiana*. Diputación Provincial de Badajoz.
- RIVAS GODAY, S. & al.
1963 Estudio y mapa de vegetación de la provincia de Cádiz. In: GONZÁLEZ GARCÍA, F. & cols. Estudio agrobiológico de la provincia de Cádiz. *Publ. Dip. Prov. Cádiz*: 215-257.
- RIVAS-MARTINEZ, S.
1982 Étages bioclimatiques, secteurs chorologiques et séries de végétation de l'Espagne méditerranéenne. *Ecol. Medit.* 8: 275-288.
- RIVERA, J. & CABEZUDO, B.
1985 Aportaciones al conocimiento florístico de la Sierra de Aracena (Huelva, España). *Acta Botanica Malacitana* 10: 61-78.
- SALVO, A. E., al. & cols.
1984 Atlas de la pteridoflora ibérica y balear. *Acta Botanica Malacitana* 9: 105-128.
- SANCHEZ SANCHEZ, J. & al.
1981 Algunas plantas del macizo de La Demanda (La Rioja). *Anales Jard. Bot. Madrid* 38 (2): 491-496.
- SILVA, M. DA
1948 *Carex remota* L. In: *De Flora Lusitanica Commentarii*, IV. *Agron. Lusit.* 10 (2): 79-121.
- SKVORTSOV, A. K.
1979 Taxonomy and distribution of *Circaea* (*Onagraceae*) in the USSR. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 66: 880-892.
- VALDES FRANZI, A.
1983 Algunas plantas interesantes de la Sierra de Gata (Cáceres). *Studia Botanica* 2: 195-200.

En el campo de la narrativa, el autor más importante de la generación del 1940 es el peruano José María Arguedas, quien en su obra *Los ríos profundos* (1945) y *El zorro y el hombre* (1947) logra una síntesis perfecta entre lo indígena y lo occidental. Su lenguaje es rico y variado, y su estilo es claro y sencillo. Arguedas es un autor que ha logrado unir lo mejor de la tradición literaria hispanoamericana con lo mejor de la literatura occidental.

Otro autor importante de esta generación es el argentino Juan Manuel Rivera, quien en su obra *El río de los cerros* (1945) y *El río de los cerros* (1947) logra una síntesis perfecta entre lo indígena y lo occidental. Su lenguaje es rico y variado, y su estilo es claro y sencillo. Rivera es un autor que ha logrado unir lo mejor de la tradición literaria hispanoamericana con lo mejor de la literatura occidental.

En el campo de la poesía, el autor más importante de la generación del 1940 es el peruano César Vallejo, quien en su obra *Los poemas de la guerra* (1945) y *Los poemas de la guerra* (1947) logra una síntesis perfecta entre lo indígena y lo occidental. Su lenguaje es rico y variado, y su estilo es claro y sencillo. Vallejo es un autor que ha logrado unir lo mejor de la tradición literaria hispanoamericana con lo mejor de la literatura occidental.

Otro autor importante de esta generación es el argentino Juan Manuel Rivera, quien en su obra *El río de los cerros* (1945) y *El río de los cerros* (1947) logra una síntesis perfecta entre lo indígena y lo occidental. Su lenguaje es rico y variado, y su estilo es claro y sencillo. Rivera es un autor que ha logrado unir lo mejor de la tradición literaria hispanoamericana con lo mejor de la literatura occidental.

En el campo de la narrativa, el autor más importante de la generación del 1940 es el peruano José María Arguedas, quien en su obra *Los ríos profundos* (1945) y *El zorro y el hombre* (1947) logra una síntesis perfecta entre lo indígena y lo occidental. Su lenguaje es rico y variado, y su estilo es claro y sencillo. Arguedas es un autor que ha logrado unir lo mejor de la tradición literaria hispanoamericana con lo mejor de la literatura occidental.

Otro autor importante de esta generación es el argentino Juan Manuel Rivera, quien en su obra *El río de los cerros* (1945) y *El río de los cerros* (1947) logra una síntesis perfecta entre lo indígena y lo occidental. Su lenguaje es rico y variado, y su estilo es claro y sencillo. Rivera es un autor que ha logrado unir lo mejor de la tradición literaria hispanoamericana con lo mejor de la literatura occidental.

En el campo de la poesía, el autor más importante de la generación del 1940 es el peruano César Vallejo, quien en su obra *Los poemas de la guerra* (1945) y *Los poemas de la guerra* (1947) logra una síntesis perfecta entre lo indígena y lo occidental. Su lenguaje es rico y variado, y su estilo es claro y sencillo. Vallejo es un autor que ha logrado unir lo mejor de la tradición literaria hispanoamericana con lo mejor de la literatura occidental.

Otro autor importante de esta generación es el argentino Juan Manuel Rivera, quien en su obra *El río de los cerros* (1945) y *El río de los cerros* (1947) logra una síntesis perfecta entre lo indígena y lo occidental. Su lenguaje es rico y variado, y su estilo es claro y sencillo. Rivera es un autor que ha logrado unir lo mejor de la tradición literaria hispanoamericana con lo mejor de la literatura occidental.

ALTERAÇÕES INTRODUZIDAS POR CITOCININAS EXÓGENAS NO ESPECTRO PROTEICO DE RAÍZES DE *PISUM SATIVUM* L. *

por

H. D. Q. DE MATOS CALDEIRA

Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro,
3800 Aveiro, Portugal

Recebido em 4 de Fevereiro de 1986.

SUMMARY

Intact roots of *Pisum sativum* L. were treated with kinetin (K) and benzylaminopurine (BAP) at the concentrations of $0,909 \times 10^{-5}M$ and $0,909 \times 10^{-6}M$ for periods of 24 or 48 hours. The extraction of proteins and its location was made by vertical eletrophoresis in polyacrylamide gels. No significant differences were detected between the proteic spectrum of plants that were submited to the same type of treatment either with K or BAP. Treatments either with K or BAP induced new classes of proteins. The results obtained showed that the aplication either with K or BAP induced qualitative alterations in the proteic spectrum of intact roots of *Pisum sativum* L. These observations are discussed on the hypothesis that exogenous cytokinins induced a physiological stress.

INTRODUÇÃO

AS citocininas são consideradas os reguladores da divisão celular nos vegetais, induzindo uma grande diversidade de efeitos fisiológicos; observações existem que mostram um certo paralelismo entre determinados efeitos fisiológicos induzidos pelas citocininas e alterações no espectro proteico das células que manifestam tais efeitos. Assim, BOPP *et al.* (1978) observaram que no protonema de *Funaria*, a passagem da fase de «caulonema» à fase de «cloronema» implica o desaparecimento de três proteínas

* Este trabalho teve o patrocínio do Instituto Nacional de Investigação Científica (INIC).

com massas moleculares da ordem dos 500 KD e sugeriram que a falta daquelas proteínas é, por um lado, a causa da falta de resposta do «cloronema» à aplicação das citocininas exógenas e, por outro, uma consequência da actuação das citocininas no «caulonema», impedindo a terminação da síntese das 3 proteínas.

HASEGAWA *et al.* (1979) observaram que, em culturas de células de cotilédones de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, a formação dos gomos depende da presença de citocininas, o que coincide com o aparecimento de proteínas de massas moleculares de 16 KD e 20 KD. FOSKET *et al.* (1977) observaram que, em culturas de células de cotilédones de *Glycine max* (L.) Merr., uma proteína cuja síntese era fortemente activada pela zeatina apresentava uma massa molecular de 55 KD que é, aproximadamente, a massa molecular das subunidades da tubulina, proteína constituinte estrutural dos microtúbulos do fuso acromático. Contudo, FOSKET *et al.* (1981) obtiveram resultados experimentais que mostram não ser muito provável uma influência directa das citocininas na biossíntese da tubulina e que permitem admitir uma possível interferência das citocininas na regulação da formação dos microtúbulos, quer através da influência do Ca^{++} na autoagregação da tubulina nos microtúbulos, quer por interacção nas proteínas coadjuvantes na autoagregação da tubulina.

O estudo do desenvolvimento dos plastos em culturas de clones de células autotróficas de *Nicotiana* mostrou estar dependente da adição de citocininas, o que permitiu a PÉAUD-LENÖEL & AXELOS (1981) observar que o desenvolvimento dos tilacóides e a acumulação das clorofilas eram acompanhados por alterações significativas do espectro polipeptídico, originando a adição de citocininas ao meio, o desaparecimento de polipeptídeos de massas moleculares das faixas de 30 a 33 KD e de 18 KD e ao aparecimento de novos polipeptídeos na faixa dos 25 KD.

O tratamento do protonema do musgo *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. com citocininas induz diversas alterações morfo-genéticas entre as quais se podem mencionar uma aceleração na produção de gomos e de gametóforos, alterações estas que parecem estar correlacionadas com um aumento da taxa de biossíntese de proteínas, bem como determinadas modificações do espectro proteico (SPYCHALA & SZWEYKOWSKA, 1981). Assim, o tratamento com isopenteniladenina provoca um acréscimo da síntese proteica da faixa de massa molecular de 48 a 58 KD

e 14 KD e um decréscimo na fracção proteica correspondente à massa molecular de 23 KD. Resultados idênticos foram obtidos com suspensões de ribossomas extraídos das células do protoneuma da espécie referida (GWÓZDZ & SZWEYKOWSKA, 1982).

No presente trabalho realizámos uma série de experiências com o objectivo de esclarecer se a aplicação das citocininas exógenas, cinetina e benzilaminopurina, será responsável pela indução de alterações qualitativas no espectro proteico de raízes intactas de *Pisum sativum* L.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *Pisum sativum* L. adquiridas no comércio local eram desinfectadas por tratamento com solução de hipoclorito de sódio diluído, durante 15 minutos. Subsequentemente, eram lavadas em água e colocadas em imbibição num dispositivo com água corrente da torneira, durante 24 horas. Ao fim deste período, as sementes eram colocadas a germinar em caixas de Petri, entre folhas de papel de filtro humedecido com água destilada, em total escuridão, a 25° C.

Após três dias, eram as plântulas colocadas em suportes apropriados de papel de alumínio, em copos de vidro pirex contendo 250 ml de solução nutritiva de ARNON & HOAGLAND (1940) diluída dez vezes, sendo estas soluções mudadas em dias alternados; as soluções eram convenientemente arejadas por meio de ar filtrado, fornecido por meio duma bomba de aquário. A temperatura da câmara de cultura era de $25 \pm 2^\circ$ C, o fotoperíodo de 15 horas e a intensidade luminosa de 30 W/m².

Ao fim de cinco dias, as raízes eram lavadas cuidadosamente, em água bidestilada e as plantas intactas colocadas em novos volumes de solução de ARNON & HOAGLAND (1940) diluída 10 vezes. As plantas contidas nuns copos constituiriam os testemunhos e as restantes os tratamentos, adicionando-se a estes 25 ml de solução de K ou de BAP, de modo que as concentrações efectivas das soluções em cada um dos copos fossem iguais a $0,909 \times 10^{-5}$ M e $0,909 \times 10^{-6}$ M, permanecendo as ervilheiras nestas soluções arejadas, durante 24 ou 48 horas.

Ao fim destes períodos, conforme os casos, as raízes eram cortadas e pesadas 5 gramas, sendo seguidamente congeladas em azoto líquido. Como meio de extracção utilizámos o seguinte, cons-

tituído pelos reagentes: HEPES (ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico) 0,1 M com EDTA (tetracetato de etilenodiamina) 0,01 M, pH 7,8; DTE (ditiotreitól) 1 mM e PVP (polivinilpirrolidona-solúvel) a 1% (p/v).

As raízes eram trituradas num homogeneizador de alto velocidade, POLYTRON, tendo-se utilizado 20 ml de meio de extracção. Seguidamente o homogeneizado era filtrado em duas camadas de tecido de nylon. Posteriormente procedia-se à reextracção do resíduo, utilizando 10 ml de meio; os dois extractos obtidos eram adicionados e centrifugados em centrífuga refrigerada a 40 000 xg a 4° C, pelo período de 45 minutos.

Após a centrifugação, a suspensão proteica era retirada, cuidadosamente, por decantação e procedia-se, de imediato, à diálise, num grande volume de água bidestilada, por 24 horas, em banho-maria refrigerado, à temperatura de 4° C. Procedemos, de imediato, à separação das proteínas pelo processo da electroforese vertical em gel de PAA, tanto das suspensões testemunhos como tratamentos, tendo-se utilizado o aparelho de electroforese vertical GE (Pharmacia Fine Chemicals) com 2 placas verticais de gel de PAA com gradiente 4/30 (Pharmacia Fine Chemicals). O tampão usado no tanque de electroforese era o TRIS-borato, contendo: TRIS (hidroximetilaminometano) 0,09 M; borato 0,08 M e EDTA 0,003 M, pH-8,35. A temperatura do tampão era de 14-15° C, a qual era mantida por recirculação de água na serpentina do tanque, a partir dum banho-maria refrigerado. A estabilização das placas de gel era feita durante 15 minutos a 125 volts; a pré-electroforese durava 20 minutos a 70 volts. Uma das placas era carregada com 4 amostras de 0,1 ml da suspensão proteica extraída das raízes de plantas testemunhos e 15 μ l duma suspensão de proteínas-padrão, contendo: tioglobulina (M. M. = 669 000), ferritina (M. M. = 440 000), catalase (M. M. = 232 000), deshidrogenase láctica (M. M. = 140 000) e albumina (M. M. = 67 000), conjunto de calibração HMW da Pharmacia Fine Chemicals. Na outra placa procedíamos de modo idêntico, utilizando a suspensão proteica extraída dos tratamentos. A fim de evitar a difusão das suspensões proteicas colocávamos na calha de cada placa uma gota de glicerol. A electroforese decorria durante um período de 15 horas a 125 volts; os geles eram seguidamente fixados em ácido sulfosalicílico a 10% (p/v), durante 30 minutos. Cada placa era cortada longitudinalmente em molde apropriado, de

modo que, uma das partes contivesse duas amostras e um padrão e a outra porção as duas restantes amostras. A porção do gel contendo a suspensão de proteínas-padrão era corada em negro de amido (Amido black 10 B) a 0,7% (p/v) em ácido acético a 7% (v/v), durante 30 minutos. Após a coloração procedemos à descoloração das porções coradas dos geles, utilizando um descolorador GD-4 (Pharmacia Fine Chemicals), durante 40 minutos, com uma voltagem de 30 volts e usando como descolorante uma solução aquosa de ácido acético a 7% (v/v).

A localização das proteínas separadas, tanto nos geles corados pelo «amido black», como nos não corados, foi efectuada por varrimento num Microespectrofotómetro NANO SPEC/10 S acoplado a um microscópio NIKON BIOPHOT, equipado com iluminação de quartzo e iodo e lâmpada de mercúrio. O microespectrofotómetro estava acoplado a um registador potenciométrico em que a velocidade do correr do papel era dupla da velocidade do varrimento na platina do microscópio (1 cm/minuto). A absorção nos geles corados foi determinada no comprimento de onda de 620 nm e nos geles não corados no comprimento de onda de 220 nm. Os valores dos Rf das proteínas separadas, tanto das amostras, como da suspensão de referência, foram calculados, medindo no papel, as distâncias dos picos de absorção ao ponto de início do varrimento.

O método estatístico utilizado para a determinação da massa molecular das proteínas, a partir dos valores dos Rf, foi o método da menor soma dos desvios quadrados, segundo SNEDECOR & COCHRAN (1967).

RESULTADOS

Os resultados obtidos estão registados nas Tabelas I a V, contendo as Tabelas VI e VII um alinhamento das proteínas de diferentes massas moleculares obtidas, quer nos testemunhos, quer em cada um dos tratamentos, para efeitos comparativos. As Figuras 1 a 6 representam os densitogramas ópticos, de geles não corados, respeitantes a referências, testemunhos e tratamentos. A análise dos resultados mostra que, o espectro proteico das raízes de plantas intactas de *Pisum sativum* L. comporta, dentro daquilo que o método usado permite revelar, proteínas cujas massas moleculares variam de cerca de 40 KD a 1300 KD. Em relação aos testemunhos, as raízes tratadas tanto com K

TABELA I

Valores de Rf e correspondentes massas moleculares (MM) das proteínas extraídas de raízes de plantas intactas de *Pisum sativum* L. (testemunhos) e separadas por electroforese em gel de poli-acrilamina PAA 4/30

Rf	MM (KD)	Rf	MM (KD)
0,0963	1231,3	0,4596	286,1
0,1429	1021,1	0,4969	246,3
0,1781	886,4	0,5280	217,4
0,2019	805,6	0,5745	180,3
0,2360	702,4	0,6025	161,1
0,2547	651,6	0,6460	135,3
0,2795	589,8	0,6739	120,9
0,3261	489,1	0,7143	102,8
0,3540	437,3	0,7764	80,1
0,3758	400,6	0,8261	65,6
0,4006	362,6	0,9317	42,9
0,4317	320,0	—	—

Valores de MM em quilo daltons (KD) calculados pela equação seguinte:

$\log_{10} MM = 6,25838 - 1,74467 Rf$ ($r = 0,989$) obtida pelo método da menor soma dos quadrados dos desvios, a partir dos valores de Rf para cinco proteínas de MM conhecida e separadas em paralelo com a amostra do extracto.

TABELA II

Valores de Rf e correspondentes massas moleculares (MM) das proteínas extraídas das raízes de plantas intactas de *Pisum sativum* L. tratadas com K a $0,909 \times 10^{-5}M$ durante 24 horas. Proteínas extraídas e separadas por electroforese em gel de PAA 4/30

Rf	MM (KD)	Rf	MM (KD)
0,1012	1241,1	0,5031	240,4
0,1503	1015,6	0,5276	217,5
0,1748	918,9	0,5675	184,8
0,2025	820,6	0,6074	157,0
0,2362	714,8	0,6442	135,1
0,2577	654,9	0,6687	122,2
0,2853	585,1	0,7117	102,5
0,3282	491,1	0,7761	78,8
0,3558	438,7	0,7975	72,2
0,3834	391,9	0,8252	64,5
0,4018	363,6	0,8650	54,8
0,4356	316,7	0,9018	47,2
0,4571	290,1	0,9294	42,2
0,4724	272,5	—	—

Valores de MM em quilo daltons determinados a partir dos valores de Rf, pela equação $\log_{10} MM = 6,27332 - 1,77372 Rf$ ($r = 0,983$) obtida como foi descrito para a Tabela I.

TABELA III

Valores de Rf e correspondentes massas moleculares (MM) das proteínas extraídas de plantas intactas de *Pisum sativum* L. tratadas com BAP a $0,909 \times 10^{-5}M$ durante 24 horas. Proteínas extraídas e separadas por electroforese em gel PAA 4/30

Rf	MM (KD)	Rf	MM (KD)
0,0991	1266,8	0,4954	247,1
0,1424	1059,6	0,5232	220,3
0,1703	944,4	0,5635	186,8
0,1981	842,1	0,6037	158,1
0,2291	741,0	0,6378	137,3
0,2477	686,3	0,6687	120,9
0,2817	596,5	0,7059	103,7
0,3220	505,1	0,7616	82,4
0,3529	444,7	0,7926	72,5
0,3777	401,4	0,8142	66,3
0,3944	367,1	0,8545	56,2
0,4272	327,3	0,8947	47,6
0,4551	291,7	0,9288	41,3
0,4737	270,2	—	—

Valores de MM em quilo daltons determinados a partir dos valores de Rf, pela equação $\log_{10} MM = 6,28025 - 1,79136 Rf$ ($r = 0,989$) obtida pelo método referido na Tabela I.

TABELA IV

Valores de Rf e correspondentes massas moleculares (MM) das proteínas extraídas das raízes de plantas intactas de *Pisum sativum* L. tratadas com K a $0,909 \times 10^{-5}M$ durante 48 horas. Proteínas extraídas e separadas por electroforese em gel PAA 4/30

Rf	MM (KD)	Rf	MM (KD)
0,0932	1287,5	0,5280	216,0
0,1304	1105,2	0,5466	200,2
0,1584	985,2	0,5714	180,8
0,1863	878,6	0,6149	151,2
0,2205	763,5	0,6460	133,1
0,2422	698,4	0,6708	120,2
0,2733	614,7	0,7143	100,5
0,3230	501,2	0,7360	92,0
0,3509	447,0	0,7764	77,9
0,3820	393,4	0,8012	70,4
0,4037	359,9	0,8292	62,7
0,4317	320,8	0,8665	53,8
0,4565	289,7	0,9068	45,6
0,4720	271,9	0,9348	40,7
0,4907	251,8	—	—

Valores de MM em quilo daltons (KD) determinados a partir dos valores de Rf pela equação $\log_{10} MM = 6,27594 - 1,78296 Rf$ ($r = 0,984$) obtida tal como foi descrito para a Tabela I.

TABELA V

Valores de Rf e correspondentes massas moleculares (MM) das proteínas extraídas das raízes de plantas intactas de *Pisum sativum* L. tratadas com BAP a $0,909 \times 10^{-5}M$ durante 48 horas. Proteínas extraídas e separadas por electroforese em gel PAA 4/30

Rf	MM (KD)	Rf	MM (KD)
0,0915	1300,0	0,5174	227,9
0,1356	1085,6	0,5331	213,7
0,1609	978,9	0,5615	190,3
0,1924	860,6	0,6025	160,9
0,2240	756,3	0,6404	137,8
0,2461	690,9	0,6656	124,3
0,2839	592,0	0,7066	105,1
0,3218	507,0	0,7319	94,8
0,3502	451,4	0,7697	81,2
0,3754	407,3	0,7981	72,3
0,3912	381,2	0,8202	66,1
0,4227	335,6	0,8612	55,9
0,4448	306,6	0,9023	47,2
0,4669	280,2	0,9306	42,1
0,4921	252,7	—	—

Valores de MM em quilo daltons (KD) determinados a partir dos valores de Rf pela equação $\log_{10} MM = 6,27643 - 1,77562 Rf$ ($r = 0,988$) obtida como foi indicado para a Tabela I.

TABELA VI

Comparação dos espectros proteicos, para valores de MM superiores a 280 KD, das raízes das plantas de *Pisum sativum* L. referidas nas Tabelas I a V

Ordenação	Testemunhos	K a $0,909 \times 10^{-5}M$		BAP a $0,909 \times 10^{-5}M$	
		24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
1	1231,3	1241,1	1287,5	1266,8	1300,0
2	1021,1	1015,6	1105,2	1059,6	1085,6
3	886,4	918,9	985,2	944,4	978,9
4	805,6	820,6	878,6	842,1	860,6
5	702,4	714,8	763,5	741,0	756,3
6	651,6	654,9	698,4	686,3	690,9
7	589,8	585,1	614,7	596,5	592,0
8	489,1	491,1	501,2	505,1	507,0
9	437,3	438,7	447,0	444,7	451,4
10	400,6	391,9	393,9	401,4	407,3
11	362,6	363,6	359,9	367,1	381,2
12	320,0	316,7	320,8	327,3	335,6
13	286,1	290,1	289,7	291,7	306,6

TABELA VII

Comparação dos espectros proteicos, para valores de MM inferiores a 285 KD, das raízes de plantas de *Pisum sativum* L. referidas nas Tabelas I a V

Ordenação	Testemunhos	K a $0,909 \times 10^{-5}M$		BAP a $0,909 \times 10^{-5}M$	
		24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
14	—	272,5	271,9	270,2	280,2
15	246,3	240,4	251,8	247,1	252,7
16	217,4	217,5	216,0	220,3	227,9
17	—	—	200,2	—	213,7
18	180,3	184,8	180,8	186,8	190,3
19	161,1	157,0	151,2	158,1	160,9
20	135,3	135,1	133,1	137,3	137,8
21	120,9	122,2	120,2	120,9	124,3
22	102,8	102,5	100,5	103,7	105,1
23	—	—	92,0	—	94,8
24	80,1	78,8	77,9	82,4	81,2
25	—	72,2	70,4	72,5	72,3
26	65,6	64,5	62,7	66,3	66,1
27	—	54,8	53,8	56,2	55,9
28	—	47,2	45,6	47,6	47,2
29	42,9	42,2	40,7	41,3	42,1

como BAP apresentam mais seis classes de proteínas, sendo quatro daquelas classes já detectáveis, ao fim de vinte e quatro horas após a cessação do tratamento com as citocininas (270 a 280 KD; 70 a 73 KD; 54 a 56 KD e 45 a 47 KD) e as duas restantes, apenas são detectáveis ao fim de quarenta e oito horas após o início do tratamento (206 a 215 KD e 92 a 95 KD).

Os resultados obtidos mostram que não são detectáveis quaisquer diferenças significativas entre os espectros proteicos das raízes tratadas com K e BAP, nas condições experimentais utilizadas.

Os desitogramas dos geles não corados, dos extractos de alguns lotes de plantas não tratadas com as citocininas, apresentam pequenos picos nas faixas de 70 a 73 KD e 54 a 56 KD. Tal circunstância parece indicar que estas classes de proteínas existem nos testemunhos, embora em quantidades diminutas, o que implica que a sua detecção seja irregular. Os tratamentos com cinetina e 6-benzilaminopurina, provocam um aumento considerável destas duas classes de proteínas.

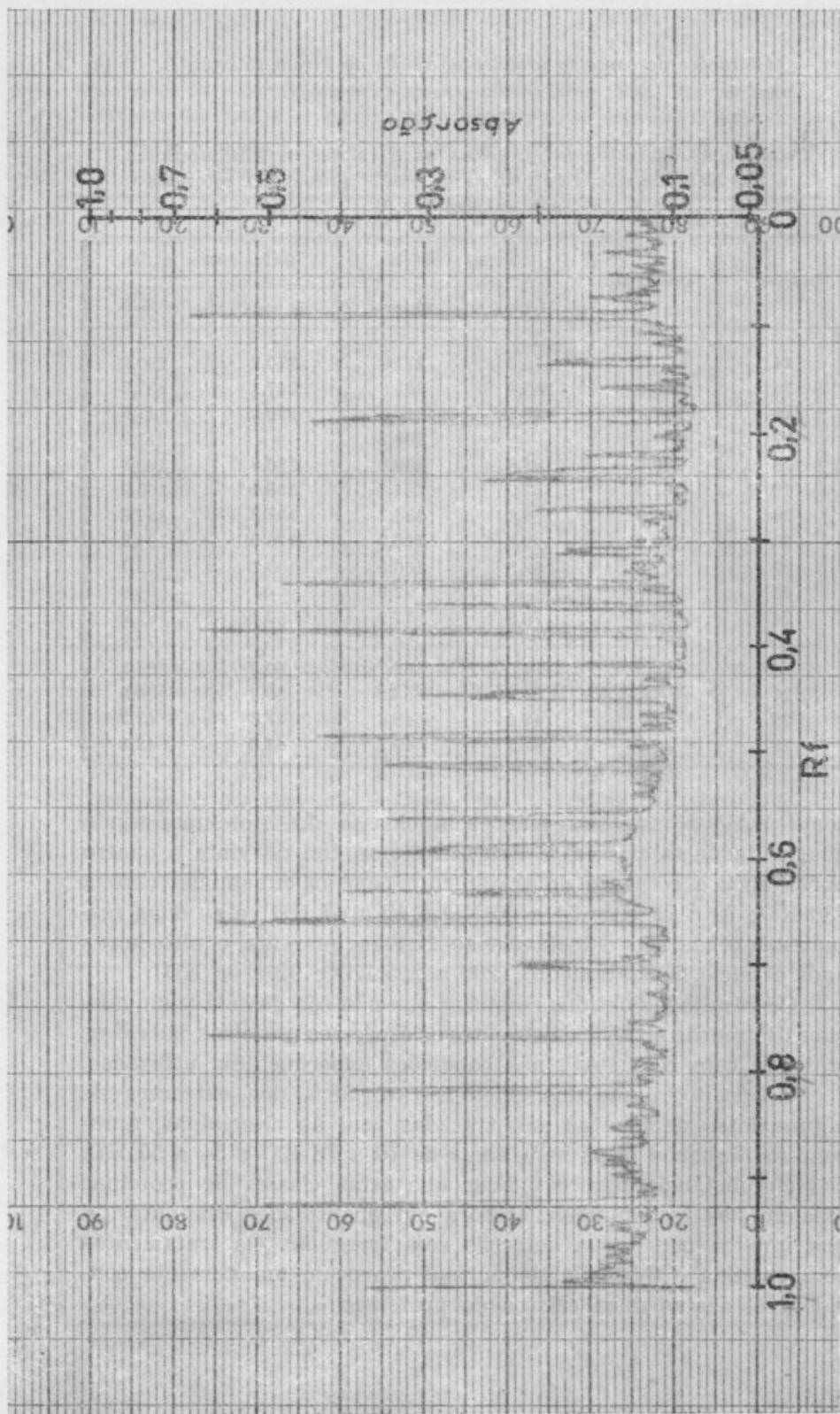


Fig. 1. — Densitograma óptico a 220 $m\mu$ de gel PAA 4/30, contendo as proteínas separadas por electroforese, extraídas de raízes de plantas de *Pisum sativum* L. não tratadas com citocininas (testemunhos).

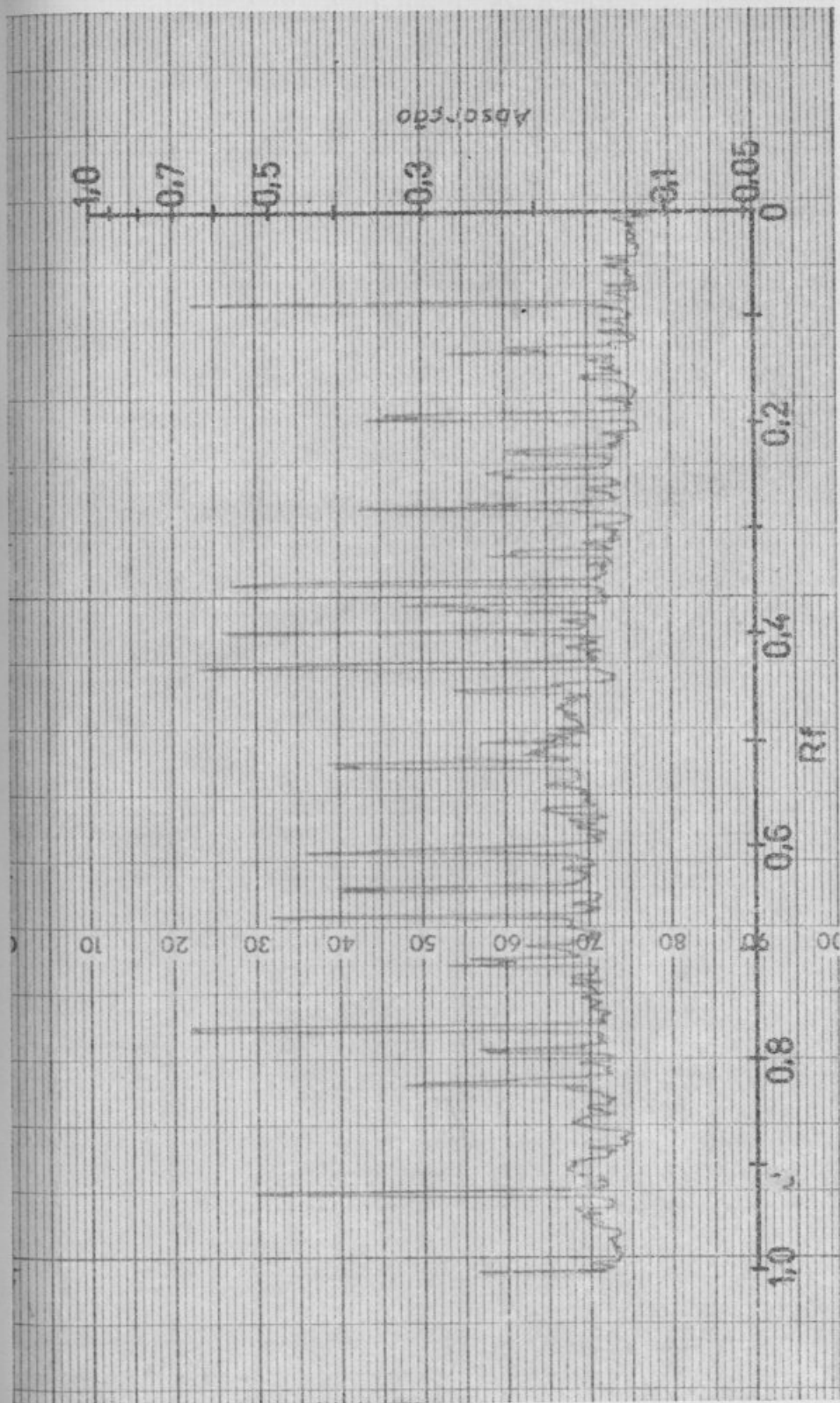


Fig. 2.—Densitograma óptico a 220 m μ de gel PAA 4/30, contendo as proteínas separadas por eletroforese, extralidas de raízes de plantas de *Pisum sativum* L. tratadas com K a $0,909 \times 10^{-5}M$, durante 24 horas.

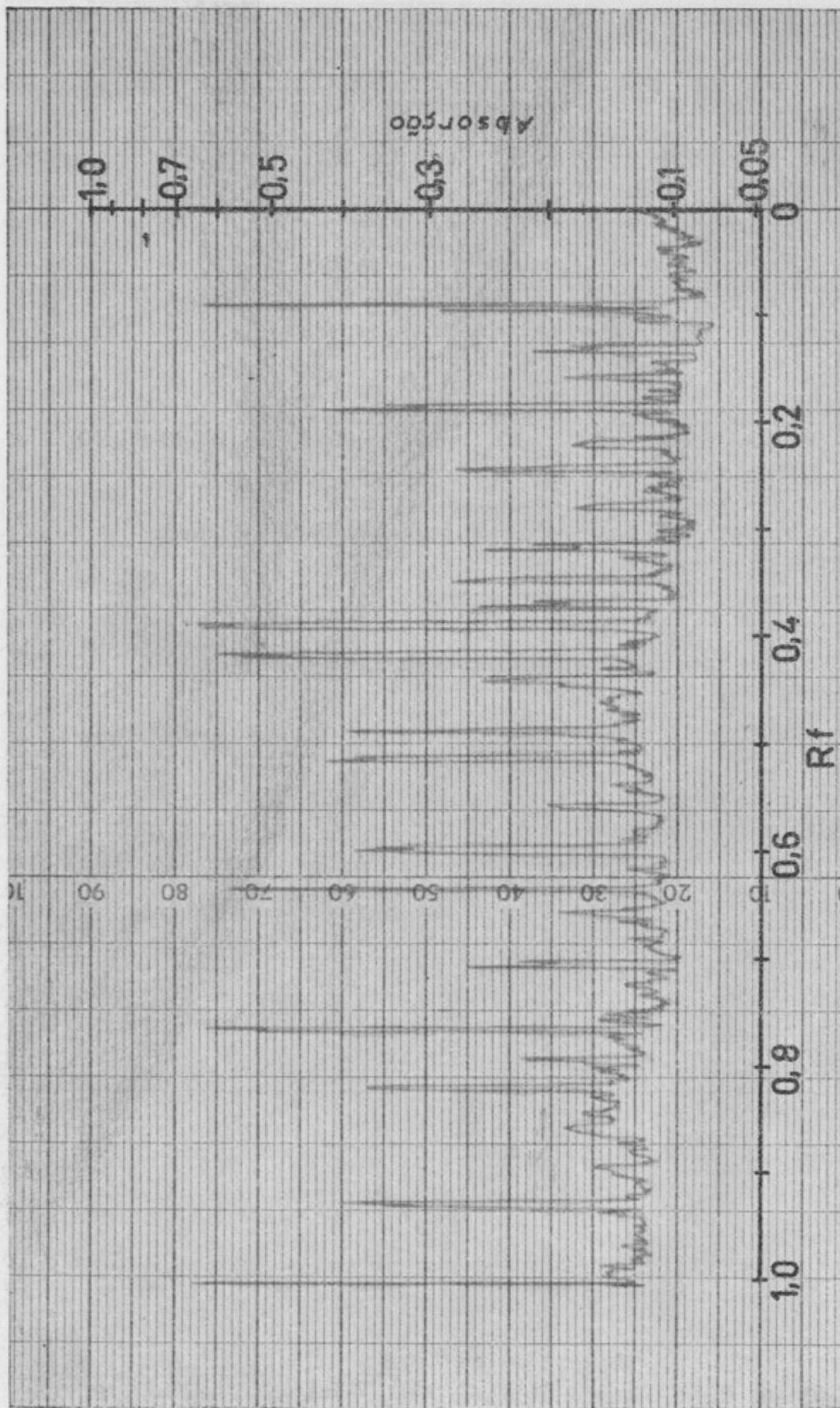


Fig. 3. — Densitograma óptico a 220 m μ de gel PAA 4/30, contendo as proteínas separadas por electroforesis, extraídas de raízes de plantas de *Pisum sativum* L. tratadas com BAP a $0,909 \times 10^{-5}$ M, durante 24 horas.

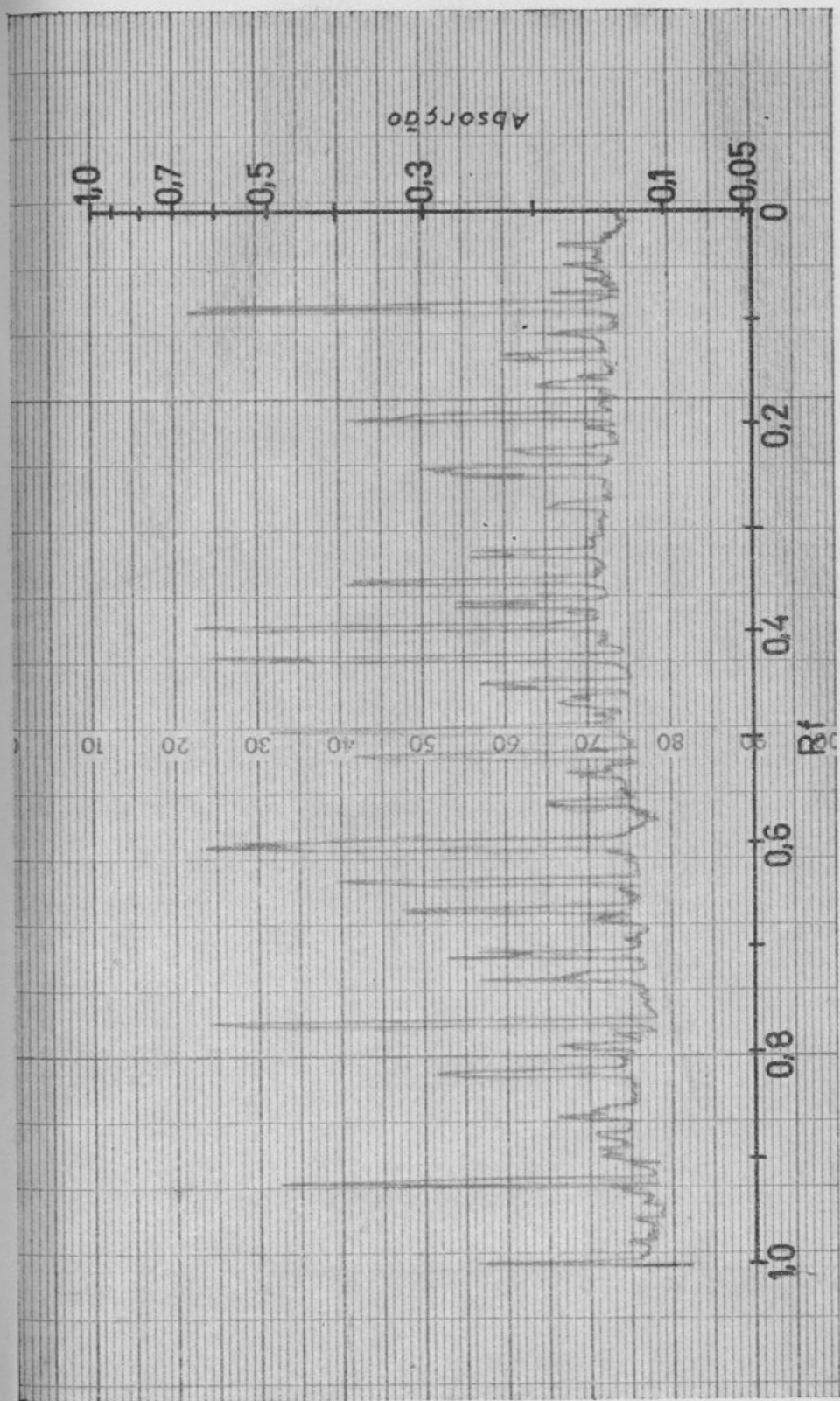


Fig. 4. — Densitograma óptico a 220 m μ . de gel PAA 4/30, contendo as proteínas separadas por electroforese, extraídas de raízes de plantas de *Pisum sativum* L. tratadas com K a $0,909 \times 10^{-5}$ M, durante 48 horas.

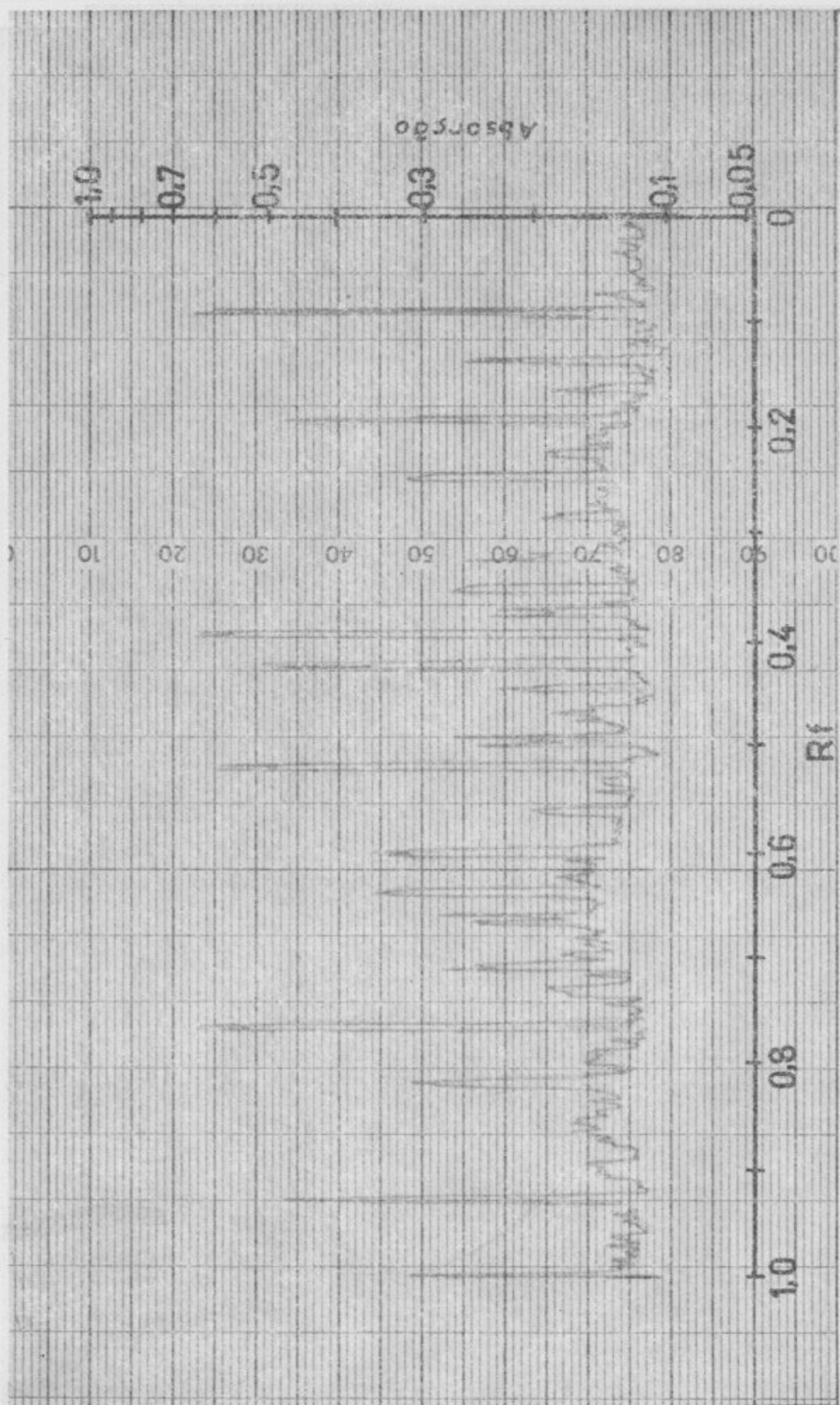


Fig. 5. — Densitograma óptico a 220 m μ de gel PAA 4/30, contendo as proteínas separadas por electroforese, extraídas de raízes de plantas de *Pisum sativum* L. tratadas com BAP a $0,909 \times 10^{-5}M$, durante 48 horas.

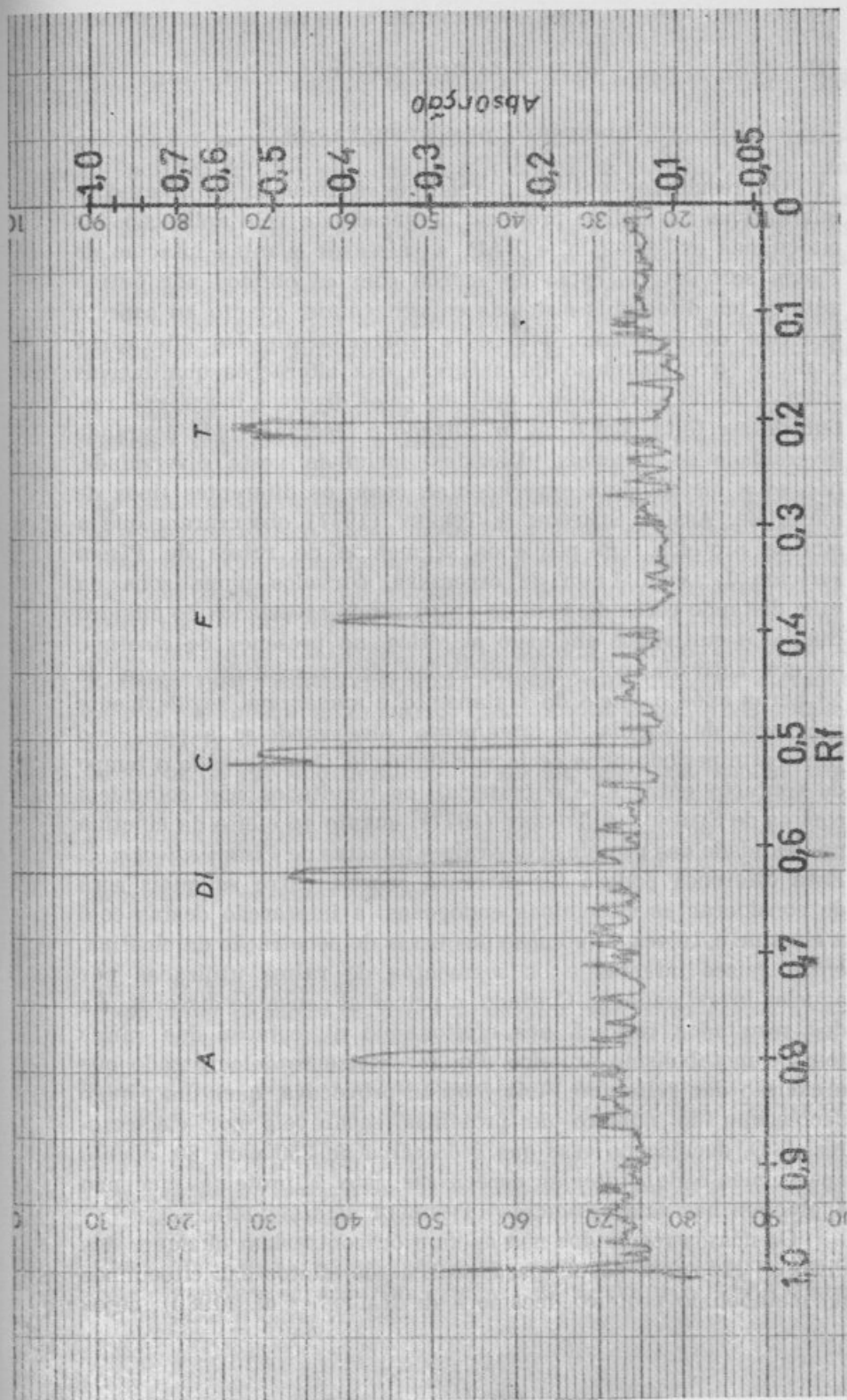


Fig. 6. — Densitograma óptico a 220 m μ de gel PAA 4/30, contendo as proteínas de referência separadas por electroforese, T-Tioglobulina; F-Ferritina; C-Catalase; DI-Deshidrogenase láctica e A-Albumina.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados obtidos e relativos à indução de alterações qualitativas na síntese proteica, desencadeada pela aplicação das citocininas exógenas, K e BAP, a raízes de plantas intactas de *Pisum sativum* L., estão de acordo com os obtidos por outros autores em diferentes sistemas experimentais, quanto ao aspecto genérico do fenómeno, isto é, o aparecimento das alterações. Contudo, a comparação da natureza das alterações qualitativas observadas no metabolismo proteico pelos diversos investigadores, tem de ser feita com o maior cuidado e reservas, dada a grande diversidade de sistemas utilizados, incluindo nesta diversidade, não só a metodologia experimental, como os diferentes tipos de materiais. Assim, SIMPSON & TORREY (1977) observaram que a síntese proteica, em pequenos segmentos de raízes de *Pisum sativum* L., com 1 mm de espessura, cortados numa zona da raiz, distando cerca de 1 cm do ápice, sendo esvaziados do cilindro central e cultivados em meio sintético, na presença de cinetina, só era activada por este regulador do crescimento, cerca de 48 horas após o início do tratamento e aumentava regularmente até cerca do 4.º dia de tratamento, observando-se a partir do fim deste período, uma certa variabilidade. Considerando o tempo de contacto entre K e o material, os resultados não coincidem com os de SIMPSON & TORREY (1977), quanto ao efeito da cinetina na qualidade das proteínas das raízes intactas de *Pisum sativum* L. Esta diferença poderá ter diversas causas, entre as quais será de considerar as citocininas endógenas, a interacção destas com a cinetina e, talvez, diferenças nas taxas de penetração da cinetina, entre raízes intactas e os segmentos de raízes utilizadas por aqueles investigadores. Contudo, a principal causa de discordância dos resultados residirá nos efeitos que o destacar das raízes tem no metabolismo proteico. Foi recentemente demonstrado que a excisão das raízes de *Vicia faba* L. provocava, quer um rápido decréscimo do número de proteínas separáveis por electroforese-2 D, decréscimo esse que é de cerca de 250 para 80, quer o aparecimento de proteínas específicas, isto é, proteínas que não apareciam nas raízes intactas (THEILLET *et al.*, 1982).

Os nossos resultados não apoiam ou contrariam qualquer das diversas hipóteses postas para explicar os efeitos das citocininas no metabolismo proteico, mesmo a de RALPH *et al.* (1980), cujos

resultados sugeriram não terem as citocininas qualquer interferência na síntese proteica. Ora, embora os resultados por nós obtidos possam, aparentemente, negar tal hipótese, não é de excluir que as alterações observadas no espectro proteico possam ser o resultado de efeitos indirectos ou mesmo deletérios, da aplicação das citocininas exógenas às raízes intactas.

Considerando que as raízes intactas conterão a dose fisiológica normal de citocininas endógenas, a aplicação das citocininas exógenas, K e BAP, poderá originar um excesso destes dois reguladores de crescimento e daqui resultar uma condição de «stress» responsável pela alteração do espectro proteico.

Actualmentet são conhecidas diversas situações de «stress» que induzem alterações, de maior ou menor grau de especificidade, do espectro proteico. Deste modo, em plantas vasculares têm sido observadas alterações qualitativas do espectro proteico induzidas por condições de «stress», como o choque térmico (BARNETT *et al.*, 1980; KEY *et al.*, 1981; COOPER & HO, 1983a, b; KANABUS *et al.*, 1983; MEYER & CHARTIER, 1983), déficite hídrico (BEWLEY & LARSEN, 1980; BEWLEY & PAPP, 1983), concentrações elevadas de NaCl (ERICSON & ALFINITO, 1983; SINGH *et al.*, 1983), anaerobiose (OKIMOTO *et al.*, 1980; SACHS *et al.*, 1980) e deficiência na fonte de carbono orgânico (WEBSTER, 1980). A análise conjunta dos nossos resultados e dos dados da literatura mencionados leva-nos a formular a hipótese de que a aplicação de citocininas exógenas às raízes intactas de *Pisum sativum* L. induz uma situação de «stress» fisiológico.

BIBLIOGRAFIA

- ARNON, D. I. & HOAGLAND, D. R.
1940 Crop production in artificial solutions and in soils with special reference to factors influencing yields and absorption of inorganic nutrients. *Soil Sci.*, 50: 463-484.
- BARNETT, T., ALTSCHULER, M., McDANIEL, C. L. & MASCARENHAS, J. P.
1980 Heat shock induced proteins in plant cells. *Dev. Genet.*, 1: 331-340.
- BEWLEY, J. D. & LARSEN, K. M.
1980 Cessation of protein synthesis in water stressed Pea roots and Maize mesocotyls without loss of polyribosomes. Effects of lethal and non lethal water stress. *J. Exp. Bot.*, 31: 1245-1256.
- BEWLEY, J. D. & PAPP, J. E. T.
1983 Water-stress induced changes in protein synthesis by young Maize seedlings: a comparison with heat shock and abscisic acid effects. *Plant Physiol.*, 72: S-95.

- BOFF, M., ERICHSEN, U., NESSEL, M. & KNOOP, B.
1978 Connection between the synthesis of differentiation of specific proteins and the capacity of cells to respond to cytokinin in the moss *Funaria*. *Physiol. Plant.*, **42**: 73-78.
- COOPER, P. & HO, T. D.
1983a Heat shock proteins in Maize. *Plant Physiol.*, **71**: 215-222.
1983b Tissue specificity and cellular localization of Maize heat shock proteins. *Plant Physiol.*, **72**: S-169.
- ERICSON, M. & ALFINITO, S. C. H.
1983 Proteins produced during salt stress in Tobacco cell culture. *Plant Physiol.*, **72**: S-170.
- FOSKET, D. E., VOLK, M. J. & GOLDSMITH, M. R.
1977 Polyribosome formation in relation to cytokinin-induced cell division in suspension cultures of *Glycine max* (L.) Merr., *Plant Physiol.*, **60**: 554-562.
- FOSKET, D. E., MOREJOHN, L. C. & WESTERLING, K. E.
1981 Control of growth by cytokinin: An examination of tubulin synthesis during cytokinin-induced growth in cultured cells of Paul's scarlet Rose. In J. GUERN and C. PÉAUD-LENÔEL (eds.), ISBN 3-540-10711-8, pp. 193-211.
- GWÓZDZ, E. A. & SZWEYKOWSKA, M.
1982 Cytokinin-induced activation of polyribosomes in the protonema of *Ceratodon purpureus*. *Physiol. Plant.*, **55**: 214-220.
- HASEGAWA, P. M., YASUDA, T. & CHENG, T. Y.
1979 Effect of auxin and cytokinin on newly synthesized proteins of cultured Douglas Fir cotyledons. *Physiol. Plant.*, **46**: 211-217.
- KANABUS, J., PIKAARD, C. S. & CHERRY, J. H.
1983 Heat shock responses in Tobacco cell suspension in relation to growth cycle and environmental conditions. *Plant Physiol.*, **72**: S-591.
- KEY, J. L., LIN, C. Y. & CHEN, C. M.
1981 Heat shock proteins of higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**: 3526-3530.
- MEYER, Y. & CHARTIER, Y.
1983 Long-lived and short-lived heat-shock proteins in Tobacco mesophyll protoplasts. *Plant Physiol.*, **72**: 26-32.
- OKIMOTO, R., SACHS, M. M., PORTER, E. K. & FREELING, M.
1980 Patterns of polypeptide synthesis in various Maize organs under anaerobiosis. *Planta*, **150**: 89-94.
- PÉAUD-LENÔEL, C. & AXELOS, M.
1981 Plastid proteins of cytoplasmic origin as molecular markers of cytokinin activity. In GUERN and C. PÉAUD-LENÔEL (eds.), ISBN 3-540-10711-8, pp. 308-316.
- RALPH, R. K., WOJCIK, S. J. & AIREY, P.
1980 *In vitro* plant protein synthesis and cytokinins. *Plant Sci. Lett.*, **18**: 237-247.
- SACHS, M. M., FREELING, M. & OKIMOTO, R.
1980 The anaerobic protein of Maize. *Cell*, **20**: 761-767.

SIMPSON, S. F. & TORREY, J. G.

1977 Hormonal control of deoxyribonucleic acid and protein synthesis in Pea root cortical explants. *Plant Physiol.*, **59**: 4-9.

SINGH, N. K., HANDA, A. K., HASEGAWA, P. M. & BRESSAN, R. A.

1983 Electrophoretic protein patterns in cultured cells of Tobacco adapted to NaCl. *Plant Physiol.*, **72**: S-535.

SNEDCOR, G. W. & COCHRAN, W. G.

1967 *Statistical Methods*. (6th edition). The Iowa St. Univ. Press, Iowa, USA.

SPYCHALA, M. & SZWEYKOWSKA, A. M.

1981 The effect of cytokinin on protein synthesis in the protonema of *Ceratodon purpureus*. *Acta Physiol. Plant.*, **3**: 171-180.

THEILLET, C., DELPEYROUX, F., FISZMAN, M., REIGNER, P. & ESNAULT, R.

1982 Influence of the excision shock on the protein metabolism of *Vicia faba* L. meristematic root cells. *Planta*, **155**: 478-485.

WEBSTER, P. L.

1980 «Stress» protein synthesis in Pea root meristem cells. *Plant Sci. Lett.*, **21**: 141-145.

En la presente comunicación se describe por primera vez en la Sierra de la Sagra (Granada) la asociación *Leontopodium rigidi*.

SUMMARY

In the present communication it is described for the first time, the community *Leontopodium rigidi* in the province of Granada (Sierra de la Sagra).

INTRODUCCION

La Sagra es un meado que se alza a un lado de la carretera Granada-Buescar, siendo fácilmente visible después de pasar la ciudad de Bass, resultando su cabaña y resortada forma al final de la gran llanura que constituyó la cuenca del Guadiana Menor.

Su considerable altitud (2383 m.s.n.m.) es causa de que la nieve la cubra tempranamente, circunstancia que persiste hasta bien entrada la primavera.

Por su especial situación dentro de las Cordilleras Béticas, sector cordológico subbético, encontramos en ella, elementos subbéticos, levantinos, ibero-norteafricanos y nevadenses así como endemismos locales.

Su altitud junto con la estratégica situación en que se encuentra hace pensar que pueda ser un núcleo de emigración de numerosos taxones.



UNA NUEVA ASOCIACIÓN PRESENTE EN LA SAGRA (GRANADA, ESPAÑA)

por

A. M. NEGRILLO GALINDO & G. MARÍN CALDERÓN

Departamento de Botánica, Facultad de Farmacia,
Universidade de Granada, España

Recibido el 1 Abril de 1986.

RESUMEN

En la presente comunicación se describe por primera vez en la Sierra de la Sagra (Granada) la asociación *Saxifragetum rigoii*.

SUMMARY

In the present communication is described for the first time, the community *Saxifragetum rigoii* in the province of Granada (Sierra de la Sagra).

INTRODUCCION

LA Sagra es un macizo que se alza a un lado de la carretera Granada-Huescar, siendo fácilmente visible después de pasar la ciudad de Baza, resaltando su esbelta y recortada forma al final de la gran llanura que constituye la cuenca del Guadiana Menor.

Su considerable altitud (2383 m.s.n.m.) es causa de que la nieve la cubra tempranamente, circunstancia que persiste hasta bien entrada la primavera.

Por su especial situación dentro de las Cordilleras Béticas, sector corológico subbético, encontramos en ella, elementos subbéticos, levantinos, ibero-norteafricanos y nevadenses así como endemismos locales.

Su altitud junto con la estratégica situación en que se encuentra hace pensar que pueda ser un núcleo de emigración de numerosos taxones.

LOCALIZACION GEOGRAFICA

Los límites precisos de la zona de nuestro estudio son los siguientes: La zona objeto de estudio está enclavada en el extremo nororiental de la provincia de Granada, en los alrededores de Puebla de D. Fadrique y Huescar, cerca de los límites de las provincias de Albacete, Jaén, Murcia y Almería.

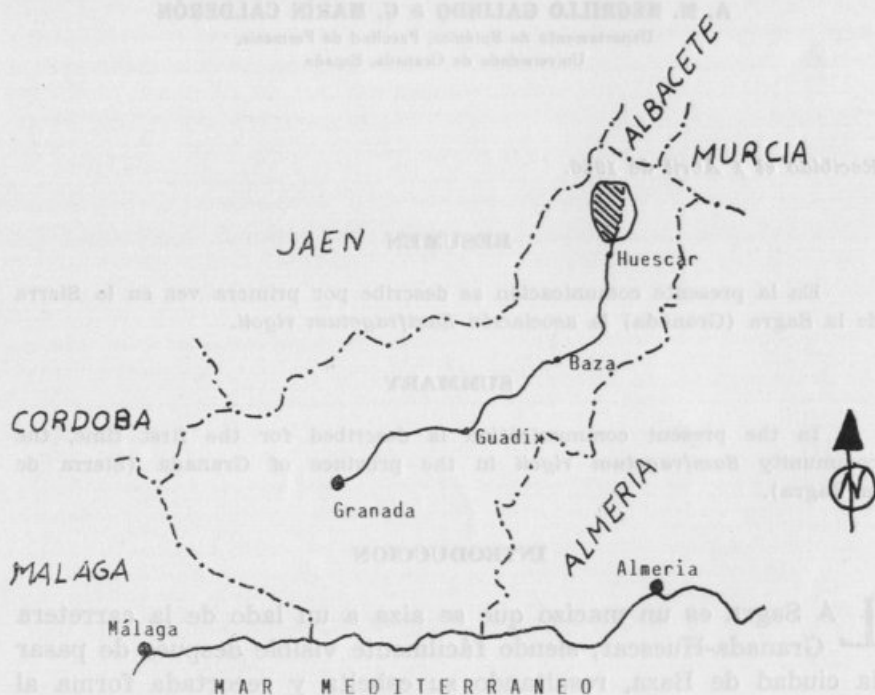


Fig. 1. — Mapa de situación.

Está comprendida al Norte: Por la carretera local que une Puebla de D. Fadrique con la carretera local Santiago de la Espada-Huescar.

Al Este: Río Bravatas y su prolongación con la acequia de Montilla hasta llegar a Huescar.

Al Sur: La localidad de Huescar y la carretera local nº 330 Huescar-Castril.

Y al Oeste: Carretera de Huescar-Santiago de la Espada hasta su intersección con la local procedente de Puebla de D. Fa-

drique, primeramente citada y que en la mayor parte de su recorrido discurre paralela al río Raigadas.

Las coordenadas U. T. M. que la limitan son:

Latitud: 30SWH4204N a WG4190N

Longitud: 30SWG533 a WG545.

Los accesos y vías de comunicación más importantes, así como los principales núcleos de población y orografía, están esquematizados (fig. 1, 2).

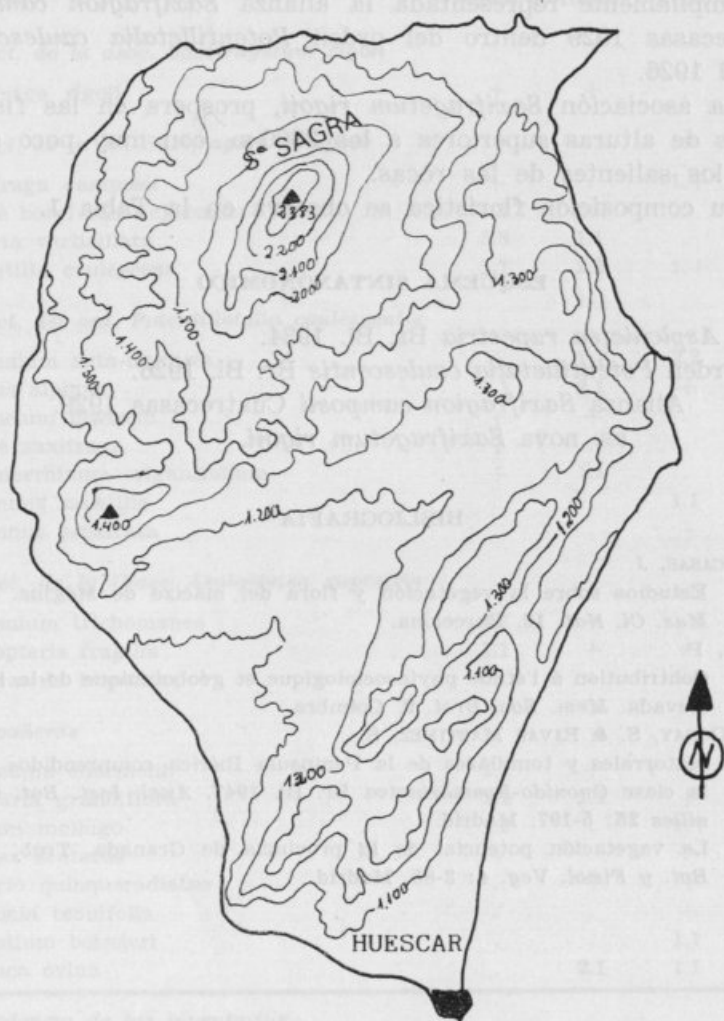


Fig. 2.—Zona de estudio.

ESTUDIO FITOSOCIOLOGICO

La asociación *Saxifragetum rigoii* que describimos queda incluida en la clase *Asplenietea rupestris* Br. Bl. 1984. La delimitación de las asociaciones que pueden ser incluidas propiamente en esta clase resulta dificultosa por el hábitat rupestre que adoptan muchas especies de otras unidades fitosociológicas.

En las altas montañas calizas béticas y penibéticas se encuentra ampliamente representada la alianza *Saxifragion camposii* Cuatrecasas 1929 dentro del orden *Potentilletalia caulescentis* Br. Bl. 1926.

La asociación *Saxifragetum rigoii*, prospera en las fisuras calizas de alturas superiores a los 2000 m, con muy poco suelo y en los salientes de las rocas.

Su composición florística se observa en la Tabla 1.

ESQUEMA SINTAXONOMICO

Clase *Asplenietea rupestris* Br. Bl. 1934.

Orden *Potentilletalia caulescentis* Br. Bl. 1926.

Alianza *Saxifragion camposii* Cuatrecasas 1929.

as. nova *Saxifragetum rigoii*.

BIBLIOGRAFIA

CUATRECASAS, J.

1929 Estudios sobre la vegetación y flora del macizo de Mágina. *Trab. Mus. Ci. Nat.* 12. Barcelona.

QUEZEL, P.

1953 Contribution à l'étude phytosociologique et géobotanique de la Sierra Nevada. *Mem. Soc. Brot.* 9. Coimbra.

RIVAS GODAY, S. & RIVAS MARTINEZ, S.

1968 Matorrales y tomillares de la Península Ibérica comprendidos entre la clase *Ononido-Rosmarinetea* Br. Bl. 1947. *Anal. Inst. Bot. Cavanilles* 25: 5-197. Madrid.

1971 La vegetación potencial de la provincia de Granada. *Trab. Dept. Bot. y Fisiol. Veg.* 4: 3-85. Madrid.

TABLA 1

Saxifragetum rigoii as. nova

Nº de inventario	1	2	3	4
Altitud (m.s.n.m.)	2500	2180	2140	2100
Orientación	NE	SE	NE	SE
Inclinación (%)	80	75	80	90
Cobertura media (%)	90	80	75	90
Altura media vegetación (cm)	10	8	12	10
Area (m ²)	10	10	10	10
Suelo	Roca	Roca	Roca	Roca
<i>Caract. de la asoc. Saxifragetum rigoii</i>				
Saxifraga rigoii	+	+	.	.
<i>Caract. de la Al. Saxifragion camposii</i>				
Saxifraga camposii	+	.	1.+	+
Silene boryi var. tejedensis	1.1	+	.	+
Linaria verticillata	3.3	1.1	.	2.2
Potentilla caulescens	1.1	2.2	1.+	1.1
<i>Caract. del ord. Potentilletalia caulescentis</i>				
Asplenium ruta-muraria	+	1.1	2.2	1.1
Erinus alpinus	1.1	2.1	+	1.1
Hieracium lawsonii	+	+	.	1.1
Silene saxifraga	+	.	.	+
Chaenorrhinum origanifolium	+	1.1	.	.
Rhamnus saxatilis	.	.	1.1	+
Rhamnus prostrata	.	.	+	.
<i>Caract. de la Clase Asplenieta rupestris</i>				
Asplenium trichomanes	1.1	+	.	.
Cystopteris fragilis	1.1	+	+	1.1
Campanula hispanica	.	+	1.+	.
<i>Compañeras</i>				
Phyteuma charmelii	1.1	+	+	1.1
Arenaria grandiflora	1.1	1.1	+	1.1
Galium mollugo	1.1	.	1.+	.
Rumex scutatus	+	.	.	+
Senecio quinquerradiatus	.	+	+	.
Buffonia tenuifolia	.	.	+	.
Cerastium boissieri	.	.	1.1	2.1
Festuca ovina	.	2.1	1.1	+

Procedencia de los inventarios

Proximidades de la cumbre de la Sierra de la Sagra

Syntypus: Inventario nº 1

MODULATION OF PLANT CYTOKINESIS BY CAFFEINE

by

C. L. ENCINA * & J. BÉCERRA **

Received March 3, 1986.

ABSTRACT

In the present paper caffeine has been used as inhibitor in order to show the effect of ionophore A-23187 on plant cytokinesis in onion root-tips. At low and medium concentrations ionophore A-23187 (10 μ M) potentiates caffeine efficiency. However, when 3 mM Ca^{++} is presented, low concentrations of ionophore are antagonistic to caffeine. But when the concentration of ionophore is increased the effect of Ca^{++} is reversed until it reaches a maximum efficiency of caffeine at 10 μ M ionophore. Magnesium doesn't perform the same effect.

We confirm that Ca^{++} and Mg^{++} are essential requirements for plant cytokinesis and propose a different form of transportation of Ca^{++} by ionophore A-23187, depending on the concentration of the ionophore. On the other hand, we confirm in our experimental system a lesser specificity of ionophore A-23187 to transport Mg^{++} than Ca^{++} .

INTRODUCTION

PLANT cytokinesis in somatic cell tissues of vascular plants is characterized by the formation of the cell plate during the last stages of mitosis. This process has been widely studied with both light (BECKER, 1938) and electron microscopy (WHALEY & MOLLENHAUER, 1963; FREY-WYSSLING *et al.*, 1964; HEPLER, 1982). However, the first approaches to study of the molecular mechanism of such a process only took place in the last decade (PAUL &

* Departamento de Hortofruticultura y Cultivos Subtropicales. I.N.I.A. del Ministerio de Agricultura y Pesca. Málaga. Spain.

** Departamento de Morfología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Spain.

GOFF, 1973; BECERRA, 1977; BECERRA & LOPEZ-SAEZ, 1982; GONZALEZ-FERNANDEZ & LOPEZ-SAEZ, 1980; LOPEZ-SAEZ *et al.*, 1982). PAUL & GOFF (1973) and ourselves (BECERRA, 1977; BECERRA & LOPEZ-SAEZ, 1982; LOPEZ-SAEZ *et al.*, 1981) have demonstrated the action of calcium and magnesium on caffeine cytokinesis inhibition, which involves some aspects of membrane recognition and/or fusion. The antagonism between caffeine and adenosine on cell plate formation (GONZALEZ-FERNANDEZ & LOPEZ-SAEZ, 1980), the negative correlation between caffeine effect reversion and high ATP levels, and the potentiation in the presence of low levels (LOPEZ-SAEZ *et al.*, 1982), suggest that caffeine in competition with the cellular ATP level, blocks cell plate formation by inhibiting the activity of certain calcium and magnesium dependent-ATPase, required for membrane fusion of Golgi vesicles. The calcium ionophore A-23187 has long been used in different biological processes in order to elucidate the significance of this cation (PRESSMAN, 1976). It has been useful in studying the role of calcium in cytokinesis by furrow (SCHROEDER & STRICKLAND, 1974; ARNOLD, 1975); in showing calcium requirement for exocytosis in tip growth of pollen tubes (REISS & HERTH, 1979); and more recently in the study of significance of calcium in the morphogenesis of *Micrasterias* (LEHTONEN, 1984).

Caffeine and the ionophore A-23187 have been used in the present report to analyse some divalent cation requirements in plant cytokinesis. The interrelationships among calcium availability in the cytosol, Ca^{++} influxes, presence of Mg^{++} , different ionophore concentrations and the inhibition of plant cytokinesis by caffeine, will be discussed in the present paper.

MATERIAL AND METHODS

The material used were root meristems of *Allium cepa* L. from Flat Violet variety of onion bulbs (15-30 g) obtained from the local market. They were grown in the dark at a $15 \pm 0.5^\circ C$ temperature, in cylindrical glass receptacles of about 70 ml capacity, containing tap water which was renewed at 24 h. intervals and aerated by continuous bubbling at a rate of 10 to 20 ml/min. The bulbs were placed in such a way that only their bases remained submerged in the water. After 2 or 3 days most of the roots ranged from 2 to 3 cm in length. In order to obtain a more homo-

geneous set of roots, an external crown of about 15 roots of the same length was kept and remaining roots were discarded 24 h. before starting the experiment.

The solutions for the various treatments, at the concentrations specified for each case, were prepared with distilled water, and the culture conditions, already described, were maintained throughout the treatment. For the ionophore A-23187, stock solutions were made dissolving 5 mg of ionophore crystallized from Sigma in 5 drops of acetone 100% (Merck) and 5 ml absolute ethanol (Merck), adding distilled water up to a final 2 mM ionophore. Stock solutions were stored at 4°C in the dark and remained active for weeks. Similar concentrations of acetone and ethanol were tested, and had no effect in our experimental conditions. In all cases, the roots were submerged in their respective treatment solutions without separating them from the bulbs. In every case roots were incubated for 4 h. in treatment solutions and 1 h. before harvesting returned to water. In order to appear either as mononucleate cells, if cytokinesis has not been inhibited, or as binucleate cells when cytokinesis has been blocked. This short recovery is necessary to permit all caffeine-affected mitotic cells to reach interphase. In every case, solutions were adjusted to pH 6.5 with NaOH or HCl.

For cytological analysis the roots were fixed in 3:1 absolute ethanol-acetic acid mixture and the specimens prepared by staining the roots with acetic orcein, according to the TJIO & LEVAN (1950) technique.

Every point on each curve represents the results observed in at least eight roots, from two bulbs. Approximately 8000 meristem cells were scored. Vertical bars in the figures represent the standard error.

RESULTS

In plant meristem under physiological conditions, the spontaneous failure of cytokinesis appears to be extremely rare (LOPEZ-SAEZ *et al.*, 1982). Therefore, the production of binucleate cells induced in the meristem population under steady-state conditions can be considered as a function of the telophase rate multiplied by the inhibitor efficacy (BECERRA & CARMONA, 1983). The telophase rate is defined by the percentage of meristematic

cells passing through telophase per hour, about 1,5% being the value obtained for the control onion root meristems at 15° C. Drug efficiency is expected to range from 1,0 for complete inhibition of cytokinesis to 0,0 when cell plate formation is always successfully accomplished.

Figure 2 (square) summarizes the binucleate production at caffeine concentration between 1 mM and 5 mM. One mM appears to be the threshold concentration of maximum efficiency, and from 2 to 3 mM of caffeine we have the half-efficiency concentration. We have selected the 3 mM and 5 mM concentrations to test the effect of the various treatments on caffeine efficiency.

Figure 1 shows the results obtained when half and total efficiency of caffeine concentrations act together with different ionophore concentrations. Low concentrations do not affect either 3 mM (circles) or 5 mM (triangles) caffeine incubations. Ten mM ionophore strongly increases the efficiency of 3 mM caffeine. The highest concentrations represented decrease the production probably by affecting the telophase rate and inhibiting cytokinesis with similar efficiency in 3 and 5 mM caffeine incubations.

In figure 2 we represent the production of binucleate cells by different caffeine concentrations together with the best ionophore concentrations, 10 mM (triangles). The presence of ionophore clearly increases the percentage of binucleate cells and its reinforcement is maximum at low caffeine concentrations.

In the same figure we represent (circles) the productions of binucleate cells in presence of calcium and magnesium, both at 10 mM concentration. The antagonism that both cations exert on caffeine inhibition of cytokinesis is clearly shown. On the other hand, high caffeine concentrations are not significantly affected by the presence of cations or ionophore.

The above mentioned results show that the ionophore A-23187 at 10 μ M concentration weakly enhances caffeine efficiency as inhibitor. Since this ionophore is a specific carrier for divalent cations, we compared its effects on plant cytokinesis inhibition by caffeine with results obtained with the ionophore in the same experimental conditions in the presence of only calcium and magnesium. As it can be seen these two effects on caffeine efficiency are opposed. But we know that the ionophore A-23187 under physiological conditions induces an influx of Ca^{++} through the cell membrane in exchange for H^+ ions (PRESSMAN, 1976).

Earlier results from our laboratory (BECERRA & LOPEZ-SAEZ, 1982) have proved that Ca^{++} and Mg^{++} are essential requirements for plant cytokinesis. Consequently, if the ionophore helps these cations to enter the cell, the expected results should be just the opposite of those in figure 1.

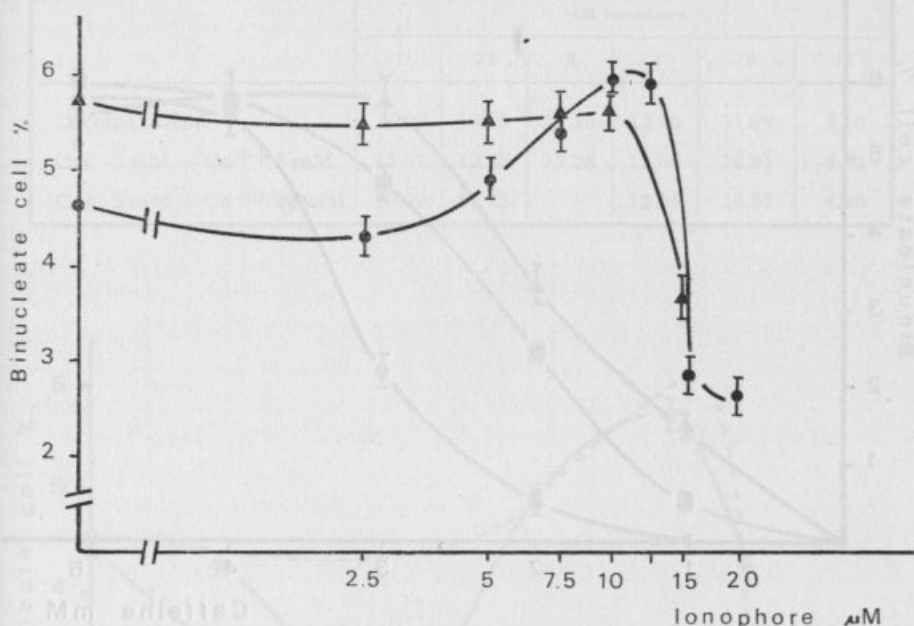


Fig. 1. — Production of binucleate cells induced by 5 mM (\blacktriangle) and 3 mM (\bullet) caffeine in the presence of different ionophore concentrations (μM).

To elucidate this problem, we carried out a new set of experiments whose results can be seen in figure 3 and 4.

In figure 3 we represent how the production of binucleate cells by 3 mM caffeine and different ionophore concentrations (broken line), can be modulated in the presence of low concentrations of calcium (3 mM, circles) or high concentrations of it (20 mM, triangles).

When 3 mM calcium is present in the medium with caffeine and ionophore the percentage of binucleate cells obtained strongly decreases at low concentrations of the ionophore (2.5 μM). However, when ionophore concentration is increased up to 5 μM , the proportion of binucleate cells reaches the control value of

3 mM caffeine. Furthermore, when the concentration of ionophore is 10 μ M, caffeine reaches its maximum efficiency. On the other hand, when 20 mM of Ca^{++} is presented in the medium, similar results are obtained, although maximum efficiency of caffeine

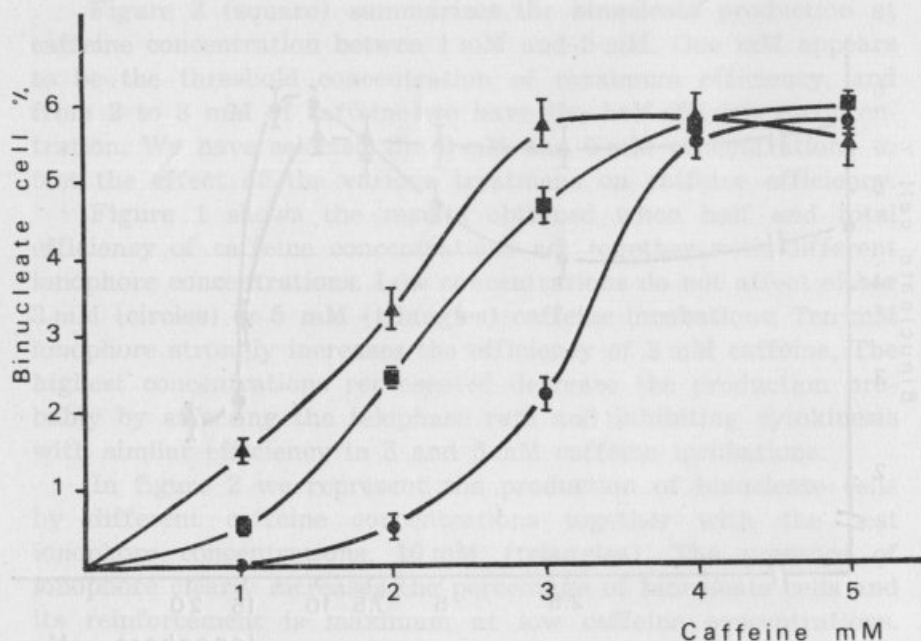


Fig. 2. — Production of binucleate cells originate by different caffeine concentrations. Caffeine control (■), with addition of $\text{Ca}^{++} + \text{Mg}^{++}$, both 10 mM (●); with addition of 10 μ M ionophore (▲).

is not reached. In Table I, we present the mitotic index measured in the same experimental conditions of the figure 3.

Figure 4 summarizes the results obtained in different experimental conditions. As can be seen, Ca^{++} and Mg^{++} or both together, antagonize caffeine. These results and others (BECERRA & LOPEZ-SAEZ, 1978) explain a separate effect of cations in such process. When a 10 μ M ionophore is present, the action of calcium and/or magnesium differs. Therefore, calcium and magnesium behave in different ways, perhaps because the ionophore transports magnesium less specifically than calcium, as will be discussed later.

TABLE I

Mitotic index measured under specified experimental conditions, with treatments of 4 hr. plus 1 hr. in the water for recovery (see Material and Methods)

	μM Ionophore					
	1	2.5	3	5	10	15
Caffeine 3 mM	11.92	10.78	11.20	12.40	11.88	8.10
Caf. 3 mM + Ca^{++} 3 mM	11.01	12.43	12.28	11.66	10.91	6.93
Caf. 3 mM + Ca^{++} 20 mM	10.99	11.73	—	12.04	10.97	4.40

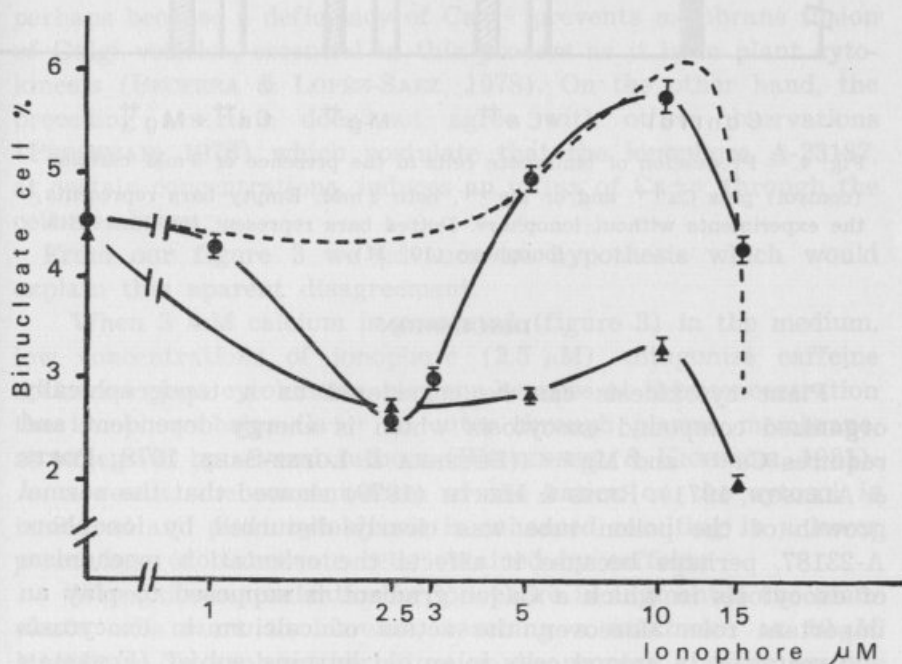


Fig. 3.—Binucleate cells induced by 3 mM caffeine in the presence of different ionophore concentrations (μM , broken line). Modulation of this effect in the presence of 3 mM (\bullet) and 20 mM Ca^{++} (\blacktriangle).

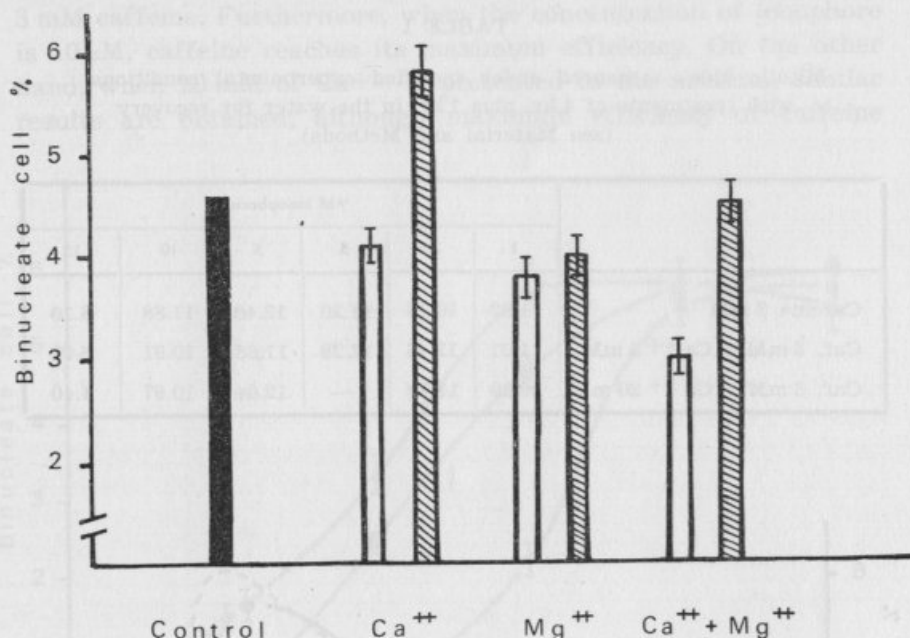


Fig. 4.—Production of binucleate cells in the presence of 3 mM caffeine (control) plus Ca^{++} and/or Mg^{++} , both 3 mM. Empty bars represent the experiments without ionophore. Dotted bars represent the ones with ionophore (10 M).

DISCUSSION

Plant cytokinesis can be considered as a topographically organized compound exocytosis which is energy dependent and requires Ca^{++} and Mg^{++} (BECERRA & LOPEZ-SAEZ, 1978; POSTE & ALLISON, 1971). REISS & HERTH (1979) showed that the normal growth of the pollen tube was clearly disturbed by ionophore Δ -23187, perhaps because it affects the orientation mechanism of exocytosis in which a Ca^{++} gradient is supposed to play an important role. Moreover, the action of calcium in exocytosis and secretion in animal cells is an old burning subject (FOREMAN *et al.*, 1976). These close similarities between plant cytokinesis and secretion mechanism in both plant and animal system suggest that the molecular events involved in each of them may be similar.

In every case different experimental tools had been used (chelating agents, verapamil, LaCl_3 , ionophore A-23187, etc.). In

our experimental conditions the ionophore A-23187 proved to have interesting effects that made it very useful for studying the significance of calcium and magnesium in plant cytokinesis as well as the mechanism of the drug in plant cells.

Firstly, 10 μ M ionophore A-23187 increases the efficiency of caffeine in inhibiting plant cytokinesis, especially at low and middle concentrations of caffeine. As Ca^{++} and Mg^{++} are essential requirements for plant cytokinesis (PAUL & GOFF, 1973; BECERRA & LOPEZ-SAEZ, 1982), it can be suggested that the ionophore disturbs the normal pool of one or both cations in the cytosol. An increase in the percentage of binucleate cells by caffeine can be explained as a deficiency of Ca^{++} and/or Mg^{++} in the cytoplasm due to the ionophore. These results are in agreement with LETHONEN (1984) who found that the ionophore A-23187 as EGTA, slow or prevent development in *Micrasterias*, perhaps because a deficiency of Ca^{++} prevents membrane fusion of Golgi vesicles, essential in this process as it is in plant cytokinesis (BECERRA & LOPEZ-SAEZ, 1978). On the other hand, the preceding assertion does not agree with other observations (PRESSMAN, 1976) which postulate that the ionophore A-23187, at certain concentrations, induces an influx of Ca^{++} through the cell membrane.

From our figure 3 we advance an hypothesis which would explain this aparent disagreement.

When 3 mM calcium is presented (figure 3) in the medium, low concentrations of ionophore (2,5 μ M) antagonize caffeine action on plant cytokinesis, perhaps because at this concentration the ionophore helps Ca^{++} to enter through plasma membrane, as sugested by several authors (WEISENSEEL & KICHERER, 1981). As a result, the concentration of the cation on the cytosol is increased and plant cytokinesis is enhanced resulting in a lower percentage of binucleate cells obtained by caffeine.

When the concentration of ionophore is augmented the binucleate cells start to increase, reaching a maximum at 10 μ M ionophore. To explain this situation we propose another assumption: when ionophore concentration is increased, a second mechanism of transporting Ca^{++} starts; we think that now the molecules of ionophore are placed in the inner cell membranes and transport Ca^{++} from the cytosol to another cell compartments, resulting in a decrease of calcium for plant cytokinesis.

When 20 mM calcium is presented (figure 3) it shows the same antagonism that took place at low concentrations of ionophore; but the potentiation of caffeine efficiency doesn't occur because at this concentration of Ca^{++} in the medium, the passive influx of this cation through plasma membrane is sufficient to counteract the action of the second mechanism proposed above.

The ionophore A-23187 has been proposed to have a predominantly higher affinity for divalent than monovalent ions, and for Ca^{++} than for Mg^{++} (PRESSMAN, 1976). The experimental system present in this paper, has shown this later selectivity. It can be inferred from figure 4 that the presence of ionophore does not modify significantly the behaviour of Mg^{++} in our experimental conditions. As was reported previously (BECERRA, 1977; BECERRA & LOPEZ-SAEZ, 1978) and we confirm that the presence of Mg^{++} in the culture medium antagonizes the action of caffeine and make this cation an essential requirement for plant cytokinesis. When calcium and magnesium act together (at the same time), the presence of 10 μM ionophore cannot reproduce the potentiation for Ca^{++} , because the presence of Mg^{++} in the cytosol partially helps cytokinesis to take place.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are indebted to Prof. J. P. LOPEZ-SAEZ of the Inst. de Biología Celular C. S. I. C. (Madrid) for advice and critical reading of the manuscript. This work is partially supported by the «Comisión Asesora para la Investigación Científica y Técnica».

BIBLIOGRAPHY

ARNOLD, J. M.

1975 An effect of calcium in cytokinesis as demonstrated with ionophore A-23187. *Cytologie* 11 (1): 1-9.

BECERRA, J.

1977 Calcium and magnesium in plant cytokinesis and their antagonism with caffeine. *Experimentia* 33: 1318-1322.

BECERRA, J. & LOPEZ-SAEZ, J. F.

1978 Effects of caffeine, calcium and magnesium in plant cytokinesis. *Exp. Cell Res.* 111: 301-308.

- BECERRA, J. & LOPEZ-SAEZ, J. F.
1982 Calcium and plant cytokinesis in L. J. ANGHILERI (Ed.). The role of calcium in biological systems Vol. 1 CRC Press. Boca Raton, Florida, p. 241.
- BECERRA, J. & CARMONA, M. C.
1983 Inhibition of plant cytokinesis by deoxiguanosine and caffeine. *Plant Cell Reports* 2: 113-116.
- BECKER, W. A.
1938 Recent investigations in vivo on the division of plant cells. *Bot. Rev.* 4: 446-453.
- FOREMAN, C.; GARLAND, L. G. & MONGAR, J. L.
1976 In C. J. DUNCAN (Ed.). Calcium and Biological Systems Cambridge Univ. Press., Cambridge, p. 193.
- FREY-WISSLLING; LOPEZ-SAEZ, J. F. & MUHLETHALER, K.
1964 Formation and development of cell plate. *J. Ultrastruct. Res.* 10: 422-432.
- GONZALEZ-FERNANDEZ, A. & LOPEZ-SAEZ, J. F.
1980 The effect of adenosine on caffeine inhibition of plant cytokinesis. *Env. Exp. Bot.* 20: 455-461.
- HEPLER, P. K.
1982 Endoplasmic reticulum in the formation of the cell plate and plasmodesmata. *Protoplasma* 111: 121-133.
- LEHTONEN, J.
1984 The significance of Ca^{++} in the morphogenesis of *Microsterias* studied with EGTA, verapamil, $LaCl_3$ and calcium ionophore A-23187. *Plant Sc. Letters* 33 (1): 53-60.
- LOPEZ-SAEZ, J. F.; NVARRETE, M. H. & BECERRA, J.
1981 Regulation of cell division in meristems. *Bol. Soc. Broteriana* 53 2.^a Série): 1315-1330.
- LOPEZ-SAEZ, J. F.; MINGO, R. & GONZALEZ-FERNANDEZ, A.
1982 ATP level and caffeine efficiency on cytokinesis. *European J. Cell Biol.* 27: 185-190.
- PAUL, DC. & GOFF, CH. W.
1973 Comparative effects of caffeine, its analogues and calcium deficiency on cytokinesis. *Exp. Cell Res.* 78: 399-419.
- POSTE, G. & ALLISON, A. C.
1971 Membrane fusion reaction: A Theory. *J. Theor. Biol.* 32: 165-168.
- PRESSMAN, B. C.
1976 Biological applications of ionophores. *Ann. Rev. Biochem.* 45: 501-530.
- REISS, H. D. & HERTH, W.
1979 Calcium ionophore A-23187 affects localized wall secretion in the tip region of pollen tubes of *Lilium longiflorum*. *Planta* 145: 225-232.
- SCHROEDER, T. E. & STRICKLAND, D. L.
1974 Ionophore A-23187, calcium and contractility in frog eggs. *Exp. Cell Res.* 83: 139-142.

TJIO, J. H. & LEVAN, A.

1950 The use of oxiquinoline in chromosome analysis. *An. Est. Exp. Aula Dei* 2: 21-64.

WHALEY, W. G. & MOLLENHAUER

1963 The Golgi Apparatus and cell plate formation, a hypothesis. *J. Cell Biol.* 17: 216.

WEISENSEEL, MH. & KICHERER, R. M.

1981 Ionic currents as control mechanism in cytomorphogenesis in: O. KIERMAYER (Ed.). *Cell Biology Monographs 8: Cytomorphogenesis in Plants*. Springer Wien — New York, p. 379.

INFLUENCE OF THE ENVIRONMENTAL CONDITIONS ON THE GROWTH OF *TRICHODERMA* SP.

by

CR. I. SIMIONESCU, V. I. POPA, M. RUSAN *
& CRISTINA VITALARIU *

Polytechnic Institute of Jassy, Splai Bahlui No. 71

* Biological Centre of Research, Jassy — Romania

Received February 20, 1986.

ABSTRACT

Results obtained in the development of *Trichoderma* sp., by using as substrate wheat straw and different culture media, are presented. By varying the composition, one can observe a differentiated microorganisms' action on the cellulosic component of the substrate, accompanied by changes in the activity of the cellulosic enzymes, as well as in the UV absorption at 280 nm, recorded for the culture liquids.

The presence of the copper ions in variable concentrations, and the limitation of the amount of nitrogen can play an important role in the setting of the enzyme synthesis that take part in the substrate degradation.

EVERYBODY knows that in nature the transformation of the vegetal world occurs as a consequence of the non-selective biodegradation of their constituents. Nevertheless, in some cases one can observe a certain preference for metabolizing either the polysaccharides or the lignin, although the latter one represents a carbon source for microorganisms only in the stage of secondary growth [3].

The possibility of putting into practice the processes of microbiological degradation is determined by the controlled action of microorganisms only on one of the constituents of the vegetal biomass. Thus, besides the selection of microorganisms with specific action, an important role is played by the induction and control of the biosynthesis of certain enzymatic systems, by means of nutrition [1].

There has been established thus that lignin degradation is stimulated by the limited concentrations of nitrogen and of certain microelements in the culture media, while the metabolism of the carbohydrates is accelerated by the presence of these elements in higher amounts [2].

In order to get further information on the biodegradation of vegetal products with *Trichoderma* sp., their growth on culture media with different composition has been analyzed. The results obtained and commented upon in this paper show that, by modifying the composition of the culture media there becomes possible the induction of some enzymatic systems, capable of exhibiting a differentiated action on the cellulosic element of the substrate used as a carbon source in the development of the *Trichoderma* species.

MATERIALS AND METHODS

In the experiments employed, microorganisms of *Trichoderma viride* and *Trichoderma lignorum* have been used for the biodegradation of wheat straw. The culture media used were characterized by the following compositions:

- A) K_2HPO_4 — 1 g; $NaNO_3$ — 3 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0.5 g; KCl — 0.5 g; glucose — 2.5 g; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0.01 g; distilled water up to 1000 mL; pH — 5.5-6;
- B) in the composition of medium A variable amounts of copper sulphate — 1.3 and 6 mg/L — are introduced;
- C) in the composition of media A and B, the amount of sodium nitrate is reduced up to 1 g/L, or it is totally eliminated;
- D) KH_2PO_4 — 0.6 g; K_2HPO_4 — 0.04 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0.5 g; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ — 7.4 g; iron citrate — 12 mg; tiamine — 0.1 g; oligoelements: $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ — 6.6 mg; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ — 1 mg; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ — 5 mg; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ — 1 mg; distilled water up to 1000 mL; pH — 5.5-6.0;
- E) K_2HPO_4 — 1 g; glucose — 2.5 g; $(NH_4)_2HPO_4$ — 4 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0.5 g; KCl — 0.5 g; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0.01 g; distilled water up to 1000 mL; pH — 5.5-6.0;
- F) $(NH_4)_2HPO_4$ — 3 g; glucose — 2.5 g; distilled water up to 1000 mL; pH — 5.5-6.0.

All cultures have been conducted in stationary conditions, in 100 mL Erlenmeyer vials, in which 0.5 g of wheat straw (chopped at 5 mm) and 50 mL of the culture medium have been introduced.

In another series of cultures, straw bleached sulphate pulp has been used as substrate on media A and B, while peptone was introduced as an extra source of nitrogen.

After sterilization, the culture media have been inoculated with *T. viride* and *T. lignorum* microorganisms, cultures being performed at a temperature of 30° C. After determined time intervals, 4 vials have been taken at a time, from which the undegraded material and the culture liquids were separated. In the straw isolated after drying, the cellulose content has been dosed by the KÜRSCHNER-HOFFER method [4].

As regards the culture media, the activity of the cellulosic enzymes and the UV absorption at 280 nm has been followed.

The enzymatic activity was determined towards filter paper, by the method proposed by MANDELS *et al.* [5]), which we have modified by substituting the dinitrosalicilic acid with picric acid [7].

For the determination of the UV absorption, 1 mL of the culture medium has been diluted in a 25 mL vial, the absorption at 280 nm being recorded.

RESULTS AND DISCUSSION

The *Trichoderma viride* cultures have been obtained by using wheat straw and the media A and B (Fig. 1).

The obtained data showed that, concomitantly with the increasing of the copper sulphate addition, the activity of the cellulosic enzymes is diminished — as a consequence, the samples degraded in the presence of the copper sulphate (1 mg/L) are characterized by a higher cellulose content. At the same time with the increase of the copper sulphate addition from 1 to 3 mg, although the activity of the cellulosic enzymes decreases, the cellulose content in the substrate is reduced, probably as a consequence of the intensification of the oxidative processes caused by oxidase enzymes, whose biosynthesis is stimulated by the presence of the copper ions. As a matter of fact, the absorption at 280 nm, which may be responsible both for the presence of exocellular proteins and for that of the phenolic compounds — as products of lignin degradation — shows lower

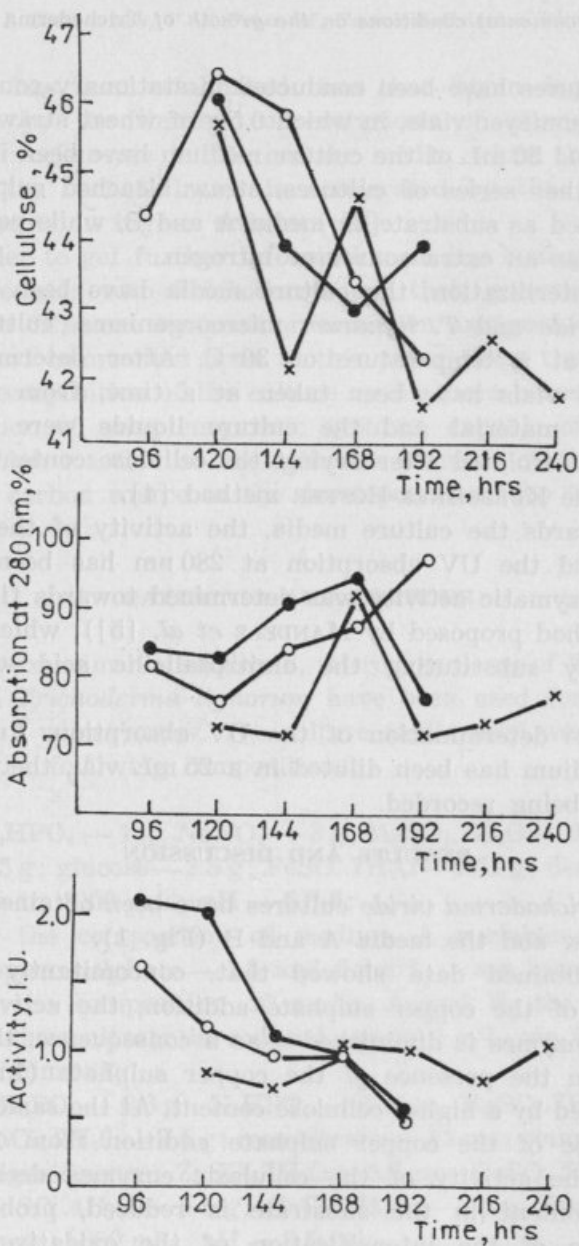


Fig. 1.—Variation of the cellulose content in straw degradation with *Trichoderma viride*, of the cellulosic enzyme activity and of the 280 nm absorption for the culture liquids.

● — without copper sulphate; ○ — with 1 mg/L copper sulphate; x — 3 mg/L copper sulphate.

values in the presence of copper ions. This fact may be either due to a more reduced content of exocellular proteins or to the oxidative metabolization of the products possessing aromatic structure. In the case of utilizing the B medium, the copper sulphate addition — 1 mg/L — favours the protection of the degradation of cellulose, at periods ranging between 120 and 144 hours.

The decreases — recorded after 168 hours — of the cellulose content of the degraded straw, with samples taken in the presence of copper, pleads for the intensification of the UV absorption and of the cellulasic enzyme activity.

In the case of *Trichoderma lignorum*, a different behaviour may be observed (Fig. 2), as regards the modification of the cellulose content in the degraded substrate, in the case of increasing the copper sulphate addition up to 6 mg/L.

Thus, in the case of samples separated after culture on medium B with 6 mg/L copper sulphate addition, a maximum cellulose content may be noticed after 192 hours.

In the same conditions and for the same period of time, a minimum activity of the cellulasic enzymes, as well as a high value of the absorption at 280 nm can be observed. For samples obtained on media containing or not 3 mg/L of copper sulphate additive, a similar behaviour is to be recorded for the two microorganisms, *Trichoderma viride* and *Trichoderma lignorum*. Thus, although the enzymatic activity is reduced as a consequence of the copper presence, the cellulose content in the substrate is lower. These data demonstrate the existence of another mechanism — probably oxidative — of degrading the cellulose component in the vegetal materials, besides the hydrolitic one, which represents a hypothesis that is to be checked in subsequent studies.

With the intent of obtaining still other arguments on the important role played by the 280 nm absorption in the process of the vegetal biomass degradation, extra-cultures of *Trichoderma lignorum* have been performed, by using as substrate both wheat straw and bleached sulphate pulp. These cultures have been conducted both in the presence and the absence of copper. In certain media, peptone has been used as supplementary nitrogen source (Table 1).

There results from these data showing that the activity of the cellulasic enzymes is diminished in the presence of copper, while it is stimulated by peptone.

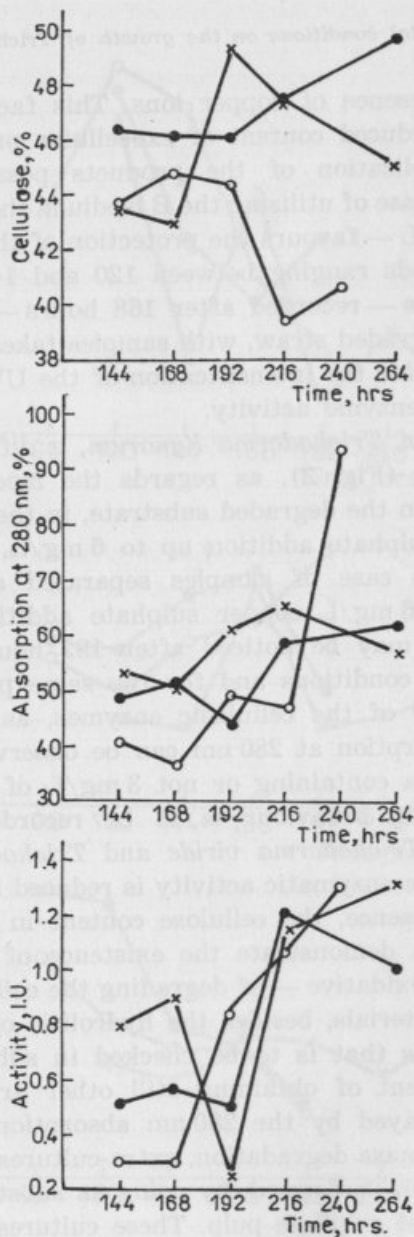


Fig. 2. — Variation of the cellulose content in straw degraded with *Trichoderma lignorum*, of the activity of the cellulase enzymes, as well as of the 280 nm absorption, for the culture liquids.

● — without copper sulphate; ○ — 3 mg/L copper sulphate; x — 6 mg/L copper sulphate.

As regards the absorption at 280 nm, the same values are to be observed for cultures on wheat straw, both in the presence and in the absence of copper ions; yet, the enzymatic activities are different.

Consequently, if a simultaneous analysis of the enzymatic activity and of the absorption at 280 nm is undertaken, the latter one could represent a relative measure of the degradation degree of substrate lignin.

TABLE 1

Variation of the 280 nm absorption and of the activity of cellulosic enzymes with cultures liquids from *T. lignorum*; 168 h; 30° C

Substrate	Medium	Absorption at 280 nm, %	Enzymatic activity, IU
straw	A	41	2.47
straw	A with 2 mg/L CuSO ₄	41	1.30
straw bleached sulphate pulp	A	20	0.712
»	B with 3 mg/L CuSO ₄	26	0.404
»	A with 5 mg/L peptone	38	3.00

In other series of experiments, the influence of the copper additive was followed, concomitantly with the reduction of the sodium nitrate concentration up to 1 g/L (Fig. 3) or with removal (Fig. 4) from the culture medium.

In the case in which cultures are obtained on media possessing a low nitrogen content, one can observe, both in the presence and in the absence of copper, a reduced activity of the cellulosic enzymes up to 216 hours, followed by its increase, as a consequence of the microorganism's adaptation to the new conditions. The cellulose content in the substrate records maximum values at durations of 144 and 168, corresponding to the minimum action of the cellulosic enzymes.

In the case of cultures performed in the absence of copper the cellulose content shows higher values.

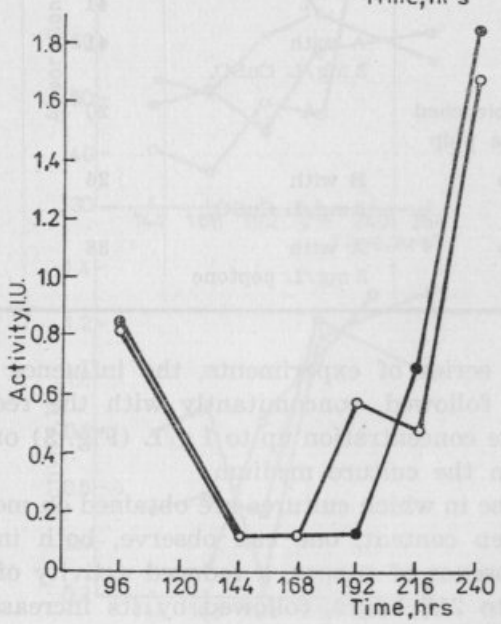
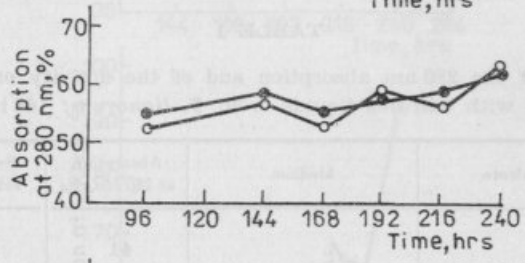
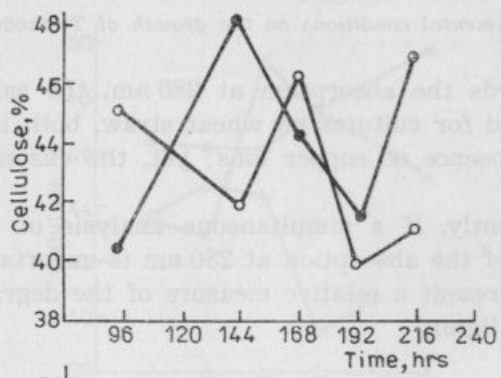


Fig. 3.—Variation of the cellulose content in straw degraded with *T. lignorum*; variation of the cellulase enzyme activity and of the 280 nm absorption (medium containing 1 g/L sodium nitrate).

● — without copper sulphate; ○ — 6 mg/L copper sulphate.

Literature data [6] state that, on limiting the nitrogen amount in the culture medium, the microorganism's action — of an oxidative type — is oriented towards lignin.

Thus, there may happen that both the nitrogen limitation and the copper presence should determine the biosynthesis of the enzymes implied in processes of oxidative degradation.

As a matter of fact, the maintaining of the UV absorption at almost constant and undifferentiated values for the two series of experiments represent an argument favouring the prevalence of the oxidative reactions.

The situation presented above is more evident in the case of removing the nitrogen source from the culture when, although a marked decrease of the cellulosic enzyme activity is to be noted, a pronounced degradation of the substrate cellulose occurs, both in the presence and absence of copper (Fig. 4).

This time however, the substrate subjected to the action of microorganisms, in the presence of copper, is characterized by a higher cellulose content. The UV absorption is not sensibly modified with duration, yet the registered values are higher than in the case of cultures on media containing 1 g/L sodium nitrate. These results sustain the action of microorganisms, this time on the other substrate compounds, especially on lignin.

The growth of the *Trichoderma lignorum* microorganism has been followed in time on other media too, e. g. the D medium (Fig. 5), E medium (Fig. 6), as well as on a simpler medium, F, in which $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ represents a source both for nitrogen and phosphorus (Fig. 7).

The obtained data emphasize the peculiarities characterizing the microorganism's growth as a function of the medium applied. Thus, one can observe that, following in time the evolution of the cellulosic enzyme activity, there can be identified the conditions in which it has the lowest value: 264 hours for the first two media and 192 hours for the third one. In the case of medium D, there can be observed a more reduced degradation of the cellulose from the substrate, whose content still shows higher values, as compared with samples obtained from cultures grown on the other media.

The $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ — containing medium proved to be efficient in the cellulosic enzyme stimulation, a fact resulting from the higher activities of the culture liquids.

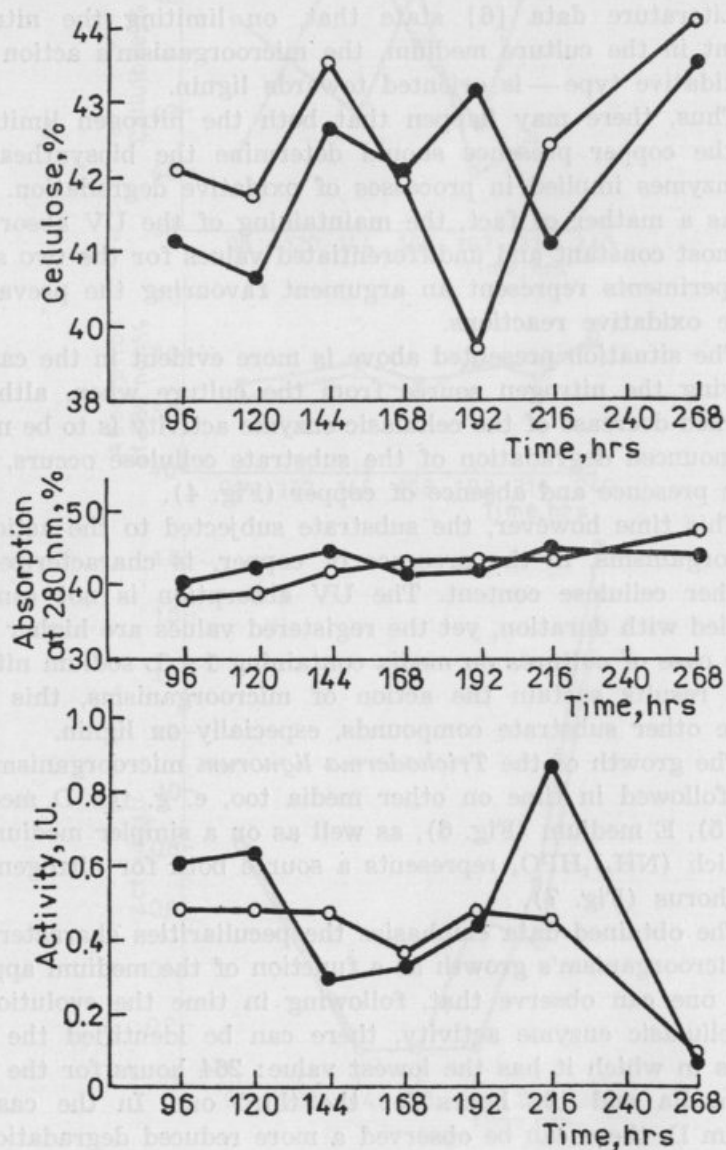


Fig. 4. — Variation of the cellulose content in straw degraded with *T. lignorum*; variation of the cellulasic enzyme activity and of the 280 nm absorption for culture liquids (in a medium lacking sodium nitrate).

● — without copper sulphate; ○ — 6 mg/L copper sulphate.

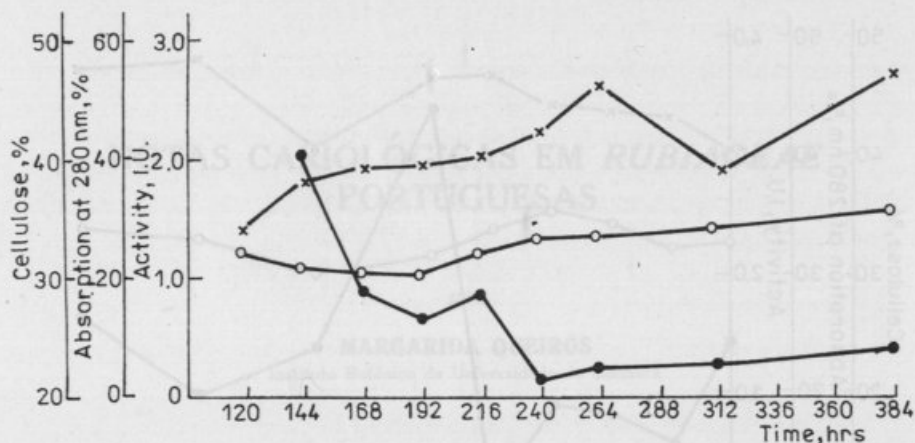


Fig. 5. — Variation of the cellulose content (x) in straw degradation with *T. lignorum*; variation of the cellulasic enzyme activity (●) and of the UV absorption (o) of the culture liquids (medium D).

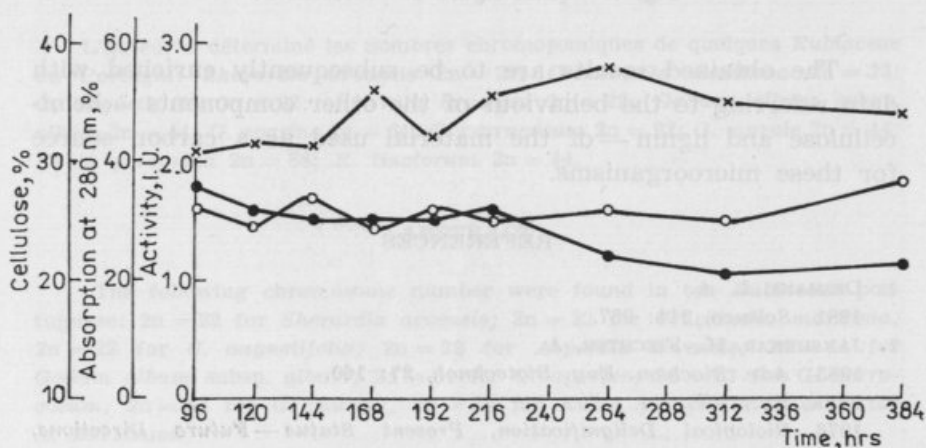


Fig. 6. — Idem figure 5 — medium E.

The UV absorption manifests an increasing tendency in all the three cases, more pronounced for the cultures performed on medium D.

In conclusion, one can assert that, by modifying the composition of the culture media, it is possible to vary the biosynthesis process of enzymes in *Trichoderma* sp., which degrade the vegetal substrate.

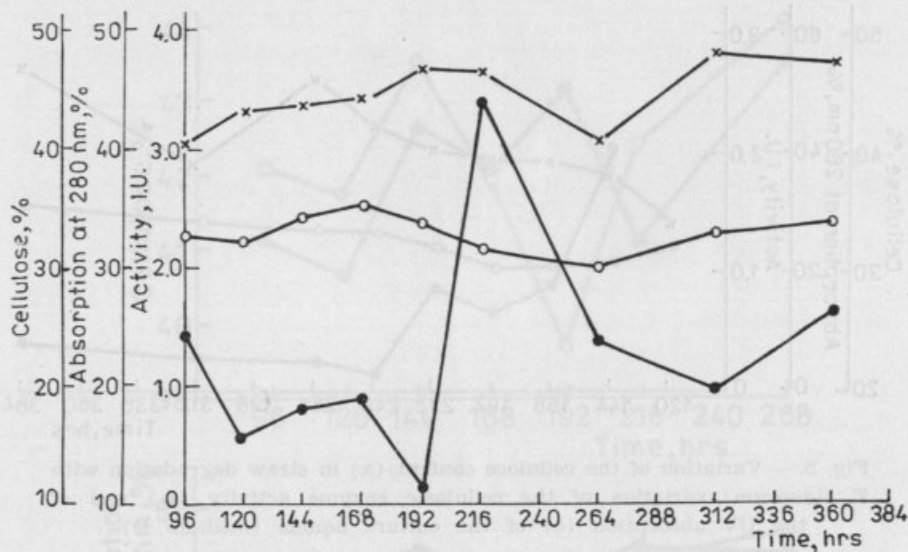


Fig. 7. — Idem figure 5 — medium F.

The obtained results are to be subsequently enriched with data referring to the behaviour of the other components — hemicellulose and lignin — of the material used as a carbon source for these microorganisms.

REFERENCES

1. DEMIANI, L. A.
1981 *Science*, **214**: 987.
2. JANSHEKAR, H., FIECHTER, A.
1983 *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, **27**: 160.
3. KIRK, KENT, T.
1976 *Biological Delignification, Present Status — Future Directions*, Weyerhaeuser, Washington, p. 44.
4. KÜRSCHNER, K., HOFFER, A.
1929 *Techn. Chem. Papier und Zellstoff Fabr.*, **26**: 125.
5. MANDELS, M., ANDREOTTI, R., ROCHE, C.
1976 *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, No. **6**: 21.
6. REID, D. I.
1983 *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**: 838.
7. SIMIONESCU, CR., POPA, V. I., RUSAN, M., RUSAN, V.
1985 *Cellulose Chem. Technol.*, **19**: 525.

NOTAS CARIOLÓGICAS EM RUBIACEAE PORTUGUESAS

por

MARGARIDA QUEIRÓS

Instituto Botânico da Universidade de Coimbra

Recebido em 4 de Abril de 1986.

RÉSUMÉ

L'auteur a déterminé les nombres chromosomiques de quelques *Rubiaceae* du Portugal: *Sherardia arvensis* $2n = 22$; *Crucianella maritima* $2n = 22$; *C. angustifolia* $2n = 22$; *Asperula arvensis* $2n = 22$; *Galium album* subsp. *album* $2n = 44$; *G. aparine* $2n = 64$; *G. verrucosum* $2n = 22$; *G. murale* $2n = 44$; *Rubia peregrina* $2n = 88$; *R. tinctorum* $2n = 44$.

ABSTRACT

The following chromosome number were found in ten *Rubiaceae* portuguese: $2n = 22$ for *Sherardia arvensis*; $2n = 22$ for *Crucianella maritima*; $2n = 22$ for *C. angustifolia*; $2n = 22$ for *Asperula arvensis*; $2n = 44$ for *Galium album* subsp. *album*; $2n = 64$ for *G. aparine*; $2n = 22$ for *G. verrucosum*; $2n = 44$ for *G. murale*; $2n = 88$ for *Rubia peregrina*; $2n = 44$ for *R. tinctorum*.

I — INTRODUÇÃO

AS contagens cromossómicas presentes nesta nota resultaram de observações soltas efectuadas em algumas espécies, no decurso dos estudos cariológicos que temos empreendido até hoje. Pensamos alargar as nossas observações a outras taxa de *Rubiaceae* de modo a que possamos, futuramente, empreender um estudo cariológico mais completo da família.

II — MATERIAL E MÉTODOS

Os números cromossómicos foram determinados em mitoses de vértices vegetativos de raízes fixados no líquido de Navachine (modificação de Brunn), incluídos em parafina, seccionados com c. 15μ e corados pelo violeta de genciana. As plantas-testemunho encontram-se depositadas no Herbário do Instituto Botânico da Universidade de Coimbra.

Foi utilizada a nomenclatura da «Flora Europaea» (1976) para a apresentação dos resultados obtidos.

III — RESULTADOS

Encontram-se resumidos no Quadro I.

QUADRO I

Espécime n.º	Taxon	Localidade	2n	Fig.
3842	<i>Sherardia arvensis</i> L.	Manique	22	1
2207	<i>Crucianella maritima</i> L.	Praia do Guincho	22	2
5862	<i>C. angustifolia</i> L.	Pulga, estrada Coimbra-Guarda	22	—
7077	<i>C. angustifolia</i> L.	Ribeira da Pega, estrada Pinhel-Guarda	22	3
3260	<i>Asperula arvensis</i> L.	Entre Pontão e Ansião	22	4
5742	<i>Galium album</i> Miller subsp. <i>album</i>	A 12 km de Valhelhas	44	5
2853	<i>G. aparine</i> L.	Arrábida	64	6
3480	<i>G. verrucosum</i> Hudson	Alcarraques, arredores de Coimbra	22	7
3227	<i>G. murale</i> (L.) All.	A 17 km de Torres Novas	44	8
6650	<i>Rubia peregrina</i> L.	Azenhas do Mar	88	9
7530	<i>R. peregrina</i> L.	Algueirão	c. 88	—
4575	<i>R. tinctorum</i> L.	Alcácer lo Sal	44	10

IV — CONCLUSÃO

1. *Sherardia arvensis* L. 2n = 22 (fig. 1)

Determinações anteriores:

2n = 22 HOMEYER (1932), FAGERLIND (1934), HOMEYER (1936), TISCHLER (1936), FAGERLIND (1937),

HEISER & WHITAKER (1948), POUQUES (1948, 1949), LÖVE & LÖVE (1956), REESE (1957), LOEVKVIST (in WEIMARK, 1963), PIOTROWICZ (in SKALINSKA & al., 1964), TAYLOR & MULLIGAN (1968), VÁCHOVÁ (in MÁJOVSKY & al., 1970b), DAHLGREN & al. (1971), LÖVE & KJELLQVIST (1974), ANCEV (in LÖVE, 1975), LOON & SNELDERS (in LÖVE, 1979b) e STRID & FRANZÉN (in LÖVE, 1981).

2. *Crucianella maritima* L. 2n = 22 (fig. 2)

Determinações anteriores:

2n = 22 HOMEYER (1932, 1936), FAGERLIND (1937), BARTOLO & al. (1978) e OLIVA (1978).

3. *Crucianella angustifolia* L. 2n = 22 (fig. 3)

Determinações anteriores:

2n = 22 FAGERLIND (1934, 1937), POUQUES (1948, 1949), ANCEV (in LÖVE, 1974b), QUEIRÓS (1979) e STRID & FRANZÉN (in LÖVE, 1981).

2n = 44 HOMEYER (1932, 1936), POUQUES (1949).

4. *Asperula arvensis* L. 2n = 22 (fig. 4)

Determinações anteriores:

2n = 22 HOMEYER (1932, 1936), POUQUES (1948, 1949), CHUKSANOVA (in BOLKHOVSKIKH & al., 1969).

5. *Galium album* Miller subsp. *album* 2n = 44 (fig. 5)

Determinações anteriores:

2n = 44 KRENDL (1967), ANCEV (in LÖVE, 1974a), MURÍN (in MÁJOVSKY & al., 1974), MURÍN & ZÁBORSKY (in LÖVE, 1976), ANCEV (1982), KLIPHUIS (1983, 1984).

6. *Galium aparine* L. 2n = 64 (fig. 6)*Determinações anteriores:*

- 2n = 22 POUQUES (1948, 1949), SIDHU & *al.* (in LÖVE, 1983).
- 2n = 42 PIOTROWICZ (in SKALINSKA & *al.*, 1959), EHRENDORFER (1971).
- 2n = 44 HOMEYER (1936), HEISER & WHITAKER (1948), POUQUES (1948, 1949), KLIPHUIS (1962), LEWIS (1962), EHRENDORFER (1971) e COLOMBO & *al.* (1982).
- 2n = 48 EHRENDORFER (1971).
- 2n = 63 KLIPHUIS (1962), GADELLA & KLIPHUIS (1963) e EHRENDORFER (1971).
- 2n = 64 FAGERLIND (1934, 1937), HEISER & WHITAKER (1948), BÖCHER & *al.* (1955), KLIPHUIS (1962), GADELLA & KLIPHUIS (1963), LOEVKVIST (in WEIMARK, 1963), TAYLOR & MULLIGAN (1968), EHRENDORFER (1971), KRAMER & *al.* (1972), DONNEAUX (1981) e ANCEV (1982).
- 2n = 66 FAGERLIND (1934), TISCHLER (1936), FAGERLIND (1937), TISCHLER (1937), POUQUES (1949), LÖVE & LÖVE (1956), KLIPHUIS (1962), GADELLA & KLIPHUIS (1963), PODLECH & DIETERLE (1969), MURÍN & VÁCHOVÁ (in MÁJOVSKY & *al.*, 1970a), EHRENDORFER (1971), STRID (1971), KRAMER & *al.* (1972), ANCEV (in LÖVE, 1974a), LÖVE & KJELLQVIST (1974), MOORE (1975), LOON & JONG (in LÖVE, 1978a), VÁCHOVÁ & FERÁKOVÁ (in LÖVE, 1978b), BRAND & *al.* (in LÖVE, 1979a), DONNEAUX (1981), MOORE (1981) e LÖVE & LÖVE (in LÖVE, 1982).
- 2n = 68 EHRENDORFER (1971).
- 2n = 86 FAGERLIND (1934, 1937), HEISER & WHITAKER (1948) e EHRENDORFER (1971).
- 2n = 88 FAGERLIND (1934), TISCHLER (1936), FAGERLIND (1937), TISCHLER (1937) e EHRENDORFER (1971).

7. *Galium verrucosum* Hudson $2n = 22$ (fig. 7)

Determinações anteriores:

$2n = 22$ HOMEYER (1932), FAGERLIND (1934), HOMEYER (1936), FAGERLIND (1937), KLIPHUIS (1962, 1974), LÖVE & KJELLQVIST (1974) e KLIPHUIS (1984).

$2n = 44$ KLIPHUIS (1962, 1974).

8. *Galium murale* L. $2n = 44$ (fig. 8)

Determinações anteriores:

$2n = 44$ FAGERLIND (1934) e DAHLGREN & al. (1971).

9. *Rubia peregrina* L. $2n = 88$ (fig. 9)

Determinações anteriores:

$2n = 22$ CARDONA (1984).

$2n = 44$ DAHLGREN & al. (1971) e NILSSON & LASSEN (1971).

$2n = 66$ POUQUES (1948, 1949), CARDONA (1974, 1984).

$2n = 88$ LÖVE & KJELLQVIST (1974) e QUEIRÓS (1979).

$2n = 110$ NATARAJAN (in LÖVE, 1978c) e CARDONA (1984).

$2n = c. 132$ FAGERLIND (1934, 1937).

10. *Rubia tinctorum* L. $2n = 44$ (fig. 10)

Determinações anteriores:

$2n = 22$ POUQUES (1948, 1949).

$2n = 44$ HOMEYER (1932), FAGERLIND (1934), HOMEYER (1936), FAGERLIND (1937), POUQUES (1948, 1949) e CARDONA (1984).

BIBLIOGRAFIA

ANCEV, M. E.

1974a *Gallium album* Mill. ssp. *album*. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports XLIV. *Taxon* 23 (2-3): 375.

Galium aparine L. In: IBIDEM.

1974b *Crucianella angustifolia* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports XLVI. *Taxon* 23 (5-6): 806.

- 1975 *Sherardia arvensis* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports XLIX. *Taxon* 24 (4): 514.
- 1982 Taxonomic study of genus *Galium* L. in Bulgaria. II. Karyological and pollen structural investigation. *Phytology* 19: 43-68.
- BARTOLO, G., BRULLO, S. & PAVONE, P.
- 1978 Numeri cromosomici per la flora italiana: 484-493. *Inf. Bot. Ital.* 10 (2): 267-277.
- BÖCHER, T. W., LARSEN, K. & RHAN, K.
- 1955 Experimental and cytological studies on plant species. II. *Trifolium arvense* and some other pauciennial herbs. *Kong. Dansk. Vid. Selsk. Biol. Skr.* 8 (3): 1-31.
- BOLKHOVSKIKH, Z., GRIF, V., MATVEYEVA, T. & ZAKHARYEVA, O.
- 1969 Kromosome numbers of flowering plants. Leningrad.
- BRAND, C., VAN DEN, MEEL, F. C. M., VAN & WIEFFERING, J. H.
- 1979a *Galium aparine* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports LXIV. *Taxon* 28 (4): 395.
- CARDONA, M. A.
- 1974 Estudio citotaxonomico de algunas especies de las islas Medes, Baleares, Corcega y Cerdeña. *Lagasalia* 4 (2): 213-220.
- 1984 Caryosystème et différenciation évolutive de quelques «*Rubia*» méditerranéennes. *Webbia* 38: 513-529.
- CHUKSANOVA, N. A.
- 1969 *Asperula arvensis* L. In: BOLKHOVSKIKH & al. — Chromosome numbers of flowering plants. Leningrad.
- COLOMBO, P., MARCENÒ, C. & PRINCIOTTA, R.
- 1982 Números cromosómicos de plantas occidentales, 200-210. *An. J. Bot. Madrid* 39 (2): 519-524.
- DAHLGREN, R., KARLSSON, TH. & LASSEN, P.
- 1971 Studies on the flora the Balearic Islands. I. Chromosome numbers in Balearic angiosperms. *Bot. Not.* 124 (2): 249-269.
- DAVIS, P. H. & al.
- 1971 Plant life of south-west Asia. Edinburgh.
- DONNEAUX, A.
- 1981 Contribution à l'étude cytotaxonomique du genre *Galium* L. s. l. (*Rubiaceae*) en Belgique et dans les régions voisines. *Lejeunia*, Nouv. Sér., 103: 1-74.
- EHRENDORFER, F.
- 1971 Evolution and eco-geographical differentiation in some south-west asiatic *Rubiaceae*. In: DAVIS, P. H. & al. — Plant life south-west Asia: 195-215. Edinburgh.
- FAGERLIND, F.
- 1934 Beiträge zur kenntnis der Zytologie der Rubiaceen. *Hereditas* 19 (1-2): 223-232.
- 1937 Embryologische, zytologische und bestäubungsexperimentelle Studien in der Familie *Rubiaceae* nebst Bemerkungen über einige Polyploiditätsprobleme. *Acta Horti Berg.* 11: 195-470.

GADELLA, TH. W. J. & KLIPHUIS, E.

- 1963 Chromosome numbers of flowering plants in the Netherlands. *Acta Bot. Neerl.* 12 (2): 195-230.

HEISER, C. B. & WHITAKER, TH. W.

- 1948 Chromosome number, polyploidy, and growth habit in California weeds. *Am. J. Bot.* 35: 179-186.

HOMEYER, H.

- 1932 Zur Zytologie der Rubiaceen. *Planta* 18 (3): 640.
1936 Beiträge zur Kenntnis der Zytologie und Systematik der Rubiaceen. *Bot. Jahrb.* 67 (3): 237-263.

KLIPHUIS, E.

- 1962 Cytotaxonomical studies on the genus *Galium*. A preliminary report. *Meded. Bot. Mus. Herb. Rijksuniv. Utrecht* 190: 279-285.
1974 Cytotaxonomic notes on some *Galium* species. B. *Meded. Bot. Mus. Herb. Rijksuniv. Utrecht* 413: 358-366.
1983 Cytotaxonomic notes on some species of the genus *Galium* L. (*Rubiaceae*) collected in the north-western parts of Spain. *Lagascalia* 11 (2): 229-244.
1984 Cytotaxonomic studies on the genus *Galium* L. Notes on some species occurring in Portugal. *Mem. Soc. Brot.* 27: 77-87.

KRAMER, K. V., WESTRA, L. Y. TH., KLIPHUIS, E. & GADELLA, TH. W. J.

- 1972 Floristic and cytotaxonomic notes on the flora of the Maltese Islands. *Acta Bot. Neerl.* 21 (1): 54-66.

KRENDL, F.

- 1967 Cytotaxonomie der *Galium mollugo*-Gruppe in Mitteleuropa. (Zur Phylogenie der Gattung *Galium*, VIII). *Österr. Bot. Zeitschr.* 114 (4-5): 508-549.

LEWIS, W. H.

- 1962 Chromosome numbers in north American *Rubiaceae*. *Brittonia* 14 (3): 285-290.

LOEVKVIST, B.

- 1963 *Galium aparine* L. In: WEIMARCK, H. — Skanes Flora: 591-592. Lund.
Sherardia arvensis L. In: WEIMARCK, H. — Skanes Flora: 587. Lund.

LOON, J. CHR. VAN & JONG, H. DE

- 1978a *Galium aparine* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports LIX. *Taxon* 27 (1): 59.

LOON, J. CHR. VAN & SNELDERS, H. C. M.

- 1979b *Sherardia arvensis* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports LXV. *Taxon* 28 (5/6): 633.

LÖVE, A.

- 1974a IOPB Chromosome number reports XLIV. *Taxon* 23 (2-3): 373-380.
1974b IOPB Chromosome number reports XLVI. *Taxon* 23 (5-6): 801-812.
1975 IOPB Chromosome number reports XLIX. *Taxon* 24 (4): 501-516.
1976 IOPB Chromosome number reports LIII. *Taxon* 25 (4): 483-500.
1978a IOPB Chromosome number reports LIX. *Taxon* 27 (1): 53-61.
1978b IOPB Chromosome numbers reports LXI. *Taxon* 27 (4): 375-392.
1978c IOPB Chromosome number reports LXII. *Taxon* 27 (5-6): 519-535.

- 1979a IOPB Chromosome number reports LXIV. *Taxon* 28 (4): 391-408.
1979b IOPB Chromosome number reports LXV. *Taxon* 28 (5-6): 627-637.
1981 IOPB Chromosome number reports LXXIII. *Taxon* 30 (4): 829-861.
1982 IOPB Chromosome number reports LXXV. *Taxon* 31 (2): 342-368.
1983 IOPB Chromosome number reports LXXIX. *Taxon* 32 (2): 320-324.
- LÖVE, A. & KJELLQVIST, E.
1974 Cytotaxonomy of spanish plants. IV. Dicotyledons: *Caesalpiniaceae*-*Asteraceae*. *Lagasalia* 4 (2): 153-211.
- LÖVE, A. & LÖVE, D.
1956 Cytotaxonomical conspectus of the Icelandic flora. *Acta Horti Gotob.* 20 (4): 65-291.
1982 *Galium aparine* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports LXXV. *Taxon* 31 (2): 352.
- MÁJOVSKY, J. & al.
1970a Index of chromosome numbers of slovakian flora (Part 1). *Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Bot.* 16: 1-26.
1970b Index of chromosome numbers of slovakian flora (Part 2). *Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Bot.* 18: 45-60.
1974 Index of chromosome numbers of slovakian flora (Part 4). *Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Bot.* 23: 1-23.
- MOORE, D. M.
1981 Chromosome numbers of fuegian angiosperms. *Bot. Soc. Brot., Sér.* 2, 53 (2): 995-1012.
- MOORE, R. J.
1975 The *Galium aparine* complex in Canada. *Canad. J. Bot.* 53 (9): 877-893.
- MURÍN, A.
1974 *Galium album* Mill. ssp. *album*. In: MÁJOVSKY & al. — Index of chromosome numbers of slovakian flora (Part 4). *Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Bot.* 23: 9.
- MURÍN, A. & VÁCHOVÁ, M.
1970a *Galium aparine* L. In: MÁJOVSKY & al. — Index of chromosome numbers of slovakian flora (Part 1). *Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Bot.* 16: 11.
- MURÍN, A. & ZÁBORSKY, J.
1976 *Galium album* Mill. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports LIII. *Taxon* 25 (4): 489.
- NATARAJAN, G.
1978c *Rubia peregrina* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports LXII. *Taxon* 27 (5-6): 530.
- NILSSON, Ö. & LASSEN, P.
1971 Chromosome numbers of vascular plants from Austria, Mallorca and Yugoslavia. *Bot. Not.* 124 (2): 270-276.
- OLIVA, R.
1978 Números cromosómicos para la flora española. 45-59. *Lagasalia* 8 (1): 105-109.

- PIOTROWICZ, M.
1959 *Galium aparine* L. In: SKALINSKA, M. & al. — Further studies in chromosome numbers of Polish angiosperms (Dicotyledons). *Acta Soc. Bot. Pol.* **28** (3): 508-509.
1964 *Sherardia arvensis* L. In: SKALINSKA, M. & al. — Additions to chromosome numbers of polish angiosperms (fifth contributions). *Acta Soc. Bot. Pol.* **33** (1): 55.
- PODLECH, D. & DIETERLE, A.
1969 Chromosomenstudien an afghanischen Pflanzen. *Candollea* **24** (2): 185-243.
- POUCQUES, M.-L.
1948 Relations entre caryologie et systématique chez les Rubiales. *Bull. Soc. Sci. Nancy, N. S.*, **7** (2): 33-39.
1949 Recherches caryologiques sur les Rubiales. *Rev. Gén. Bot.* **56** (659): 5-27; (660): 74-96; (661): 97-138; (662): 172-188.
- QUEIRÓS, M.
1979 Números cromossómicos para a flora portuguesa. 16-37. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **53**: 15-28.
- REESE, G.
1957 Über die Polyploidiespektren in der nordsaharischen Wüstenflora. *Flora* **144** (4): 598-634.
- SIDHU, M., BIR, S. S. & LATA, P.
1983 *Galium aparine* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports LXXIX. *Taxon* **32** (2): 322.
- SKALINSKA, M., CZAPIK, R., PIOTROWICZ, M. & al.
1959 Further studies in chromosome numbers of polish angiosperms (Dicotyledons). *Acta Soc. Bot. Pol.* **28** (3): 487-529.
1964 Additions to chromosome numbers of polish angiosperms (fifth contribution). *Acta Soc. Bot. Pol.* **33** (1): 45-76.
- STRID, A.
1971 Chromosome numbers in some albanian angiosperms. *Bot. Not.* **124** (4): 490-496.
- STRID, A. & FRANZÉN, R.
1981 *Crucianella angustifolia* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports. LXXIII. *Taxon* **30** (4): 839.
Sherardia arvensis L. In: LÖVE, A. — Chromosome number reports LXXIII. *Taxon* **30** (4): 840.
- TAYLOR, R. L. & MULLIGAN, G. A.
1968 Flora of the Queen Charlotte Islands. Part 2. Cytological aspects of the vascular plants. *Mon. Can. Depart. Agric.*, **4** (2): 1-148.
- TISCHLER, G.
1936 Die Bedeutung der Polyploidie für die Verbreitung der Angiospermen, erläutert an den Arten Schleswig-Holsteins, mit Ausblicken auf andere Florengebiete. *Bot. Jahrb.* **67**: 1-36.
1937 Die Halligenflora der Nordsee im Lichte cytologischer Forschung. *Cytologia, Fugii Jub. Vol.*: 162-170.

VÁCHOVÁ, M.

1970b *Sherardia arvensis* L. In: MÁJOVSKÝ & al. — Index of chromosome numbers of slovakian flora (Part 2). *Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Bot.* 18: 58.

VÁCHOVÁ, M. & FERÁKOVÁ, V.

1978b *Galium aparine* L. In: LÖVE, A. — IOPB Chromosome number reports. LXI. *Taxon* 27 (4): 383.

WEIMARCK, H.

1963 Skanes Flora. Lund.

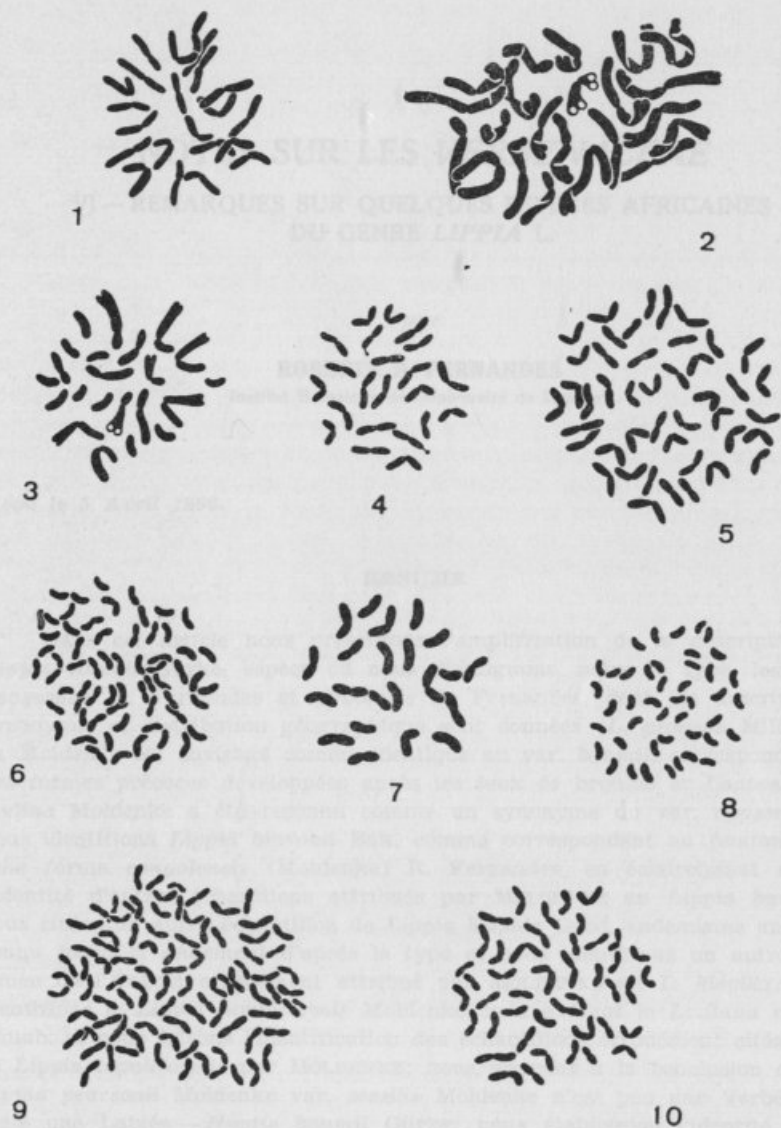
ADENDA

Já depois de ter sido composto o presente artigo, tivemos conhecimento do trabalho de E. KLIPHUIS — Cytotaxonomic studies on *Galium aparine* L. *Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch., Ser. C*, 83 (1): 53-64 (1980), onde é referido *Galium aparine* L. com os seguintes números cromossómicos somáticos determinados a partir do estudo de 1050 placas metafásicas de 128 plantas: 810 tinham $2n = 64$; 179, $2n = 66$; 25, $2n = 63$; 24, $2n = 65$; 11, $2n = 62$ e 1, $2n = 61$.

Nas determinações de *Galium album* Miller subsp. *album* acrescente-se, no lugar respectivo, a obtida por KLIPHUIS (1986) que completa as de 1983 e 1984 deste Autor. Na bibliografia acrescente-se o seguinte trabalho:

KLIPHUIS, E.

1986 Cytotaxonomic investigations on some species of the genus *Galium* (*Rubiaceae*) from the Balkans. *Nord J. Bot.* 6 (1): 15-20.



Figs. 1-10. — Metafases somáticas. $\times c. 3000$.

Fig. 1. — *Sherardia arvensis*: $2n = 22$. Fig. 2. — *Crucianella maritima*: $2n = 22$. Fig. 3. — *C. angustifolia*: $2n = 22$. Fig. 4. — *Asperula arvensis*: $2n = 22$. Fig. 5. — *Galium album* subsp. *album*: $2n = 44$. Fig. 6. — *G. aparine*: $2n = 64$. Fig. 7. — *G. verrucosum*: $2n = 22$. Fig. 8. — *G. murale*: $2n = 44$. Fig. 9. — *Rubia peregrina*: $2n = 88$.

Fig. 10. — *R. tinctorum*: $2n = 44$.

NOTES SUR LES VERBENACEAE

VI — REMARQUES SUR QUELQUES ESPÈCES AFRICAINES DU GENRE *LIPPIA* L.

par

ROSETTE B. FERNANDES

Institut Botanique de l'Université de Coimbra

Reçu le 5 Avril 1986.

RÉSUMÉ

Dans cet article nous présentons l'amplification de la description de *Lippia baumii* Gürke, espèce où nous distinguons, outre le type, les vars. *nyassensis* R. Fernandes et *nyikensis* R. Fernandes, dont les descriptions, synonymie et distribution géographique sont données (*L. praeco* Mildbraed ex Moldenke est envisagé comme identique au var. *baumii*, correspondant à des formes précoces développées après les feux de brousse et *Lantana primum* Moldenke a été reconnu comme un synonyme du var. *nyassensis*); nous identifions *Lippia burtonii* Bak. comme correspondant au *Lantana trifolia* forma *congolensis* (Moldenke) R. Fernandes, en éclaircissant encore l'identité d'autres échantillons attribués par MOLDENKE au *Lippia burtonii*; nous citons un autre échantillon de *Lippia hispida* Good, endémisme angolais connu jusqu'ici seulement d'après le type et nous identifions un autre spécimen de l'Angola erronément attribué par MOLDENKE au *L. hispida*; nous identifions le *Lippia lupuliformis* Moldenke comme étant le *Lantana rugosa* Thunb. et nous faisons l'identification des échantillons erronément cités dans ce *Lippia lupuliformis* par MOLDENKE; nous arrivons à la conclusion que le *Lippia pearsonii* Moldenke var. *sessilis* Moldenke n'est pas une Verbenacée mais une Labiée — *Hyptis baumii* Gürke; nous établissons l'identité entre les *Lippia rehmannii* H. H. W. Pearson, *L. wilmsii* H. H. W. Pearson, *L. baziiana* H. H. W. Pearson et *L. pretoriensis* H. H. W. Pearson, en choisissant pour l'espèce le premier nom, dont le choix est justifié, et en donnant sa synonymie et la liste des spécimens angolais de la même; nous présentons la synonymie de *L. woodii* Moldenke, taxon confondu par H. H. W. Pearson et par d'autres auteurs avec *L. wilmsii* (*L. rehmannii*), en donnant la liste des nombreux échantillons que nous avons vus; nous établissons l'identité du type de *L. schliebenii* Moldenke ainsi que des autres échantillons attribués erronément par MOLDENKE à ce taxon; nous faisons la typification et l'iden-

tification de *L. kituiensis* Vatke et de *L. ukambensis* Vatke, en donnant la liste des échantillons de la première espèce que nous avons étudiés; nous identifions, finalement, le *Lantana scabrifolia* Moldenke comme un taxon identique au *Lippia kituiensis* Vatke.

SUMMARY

In this paper we present an enlarged description of *Lippia baumii* Gürke, a species where we distinguish two new varieties, var. *nyassensis* R. Fernandes and var. *nyikensis* R. Fernandes, from which description, synonymy and geographic distribution are given (*L. praecox* Mildbraed ex Moldenke is admitted as a synonym of var. *baumii*, corresponding to small, precocious plants developed after burnings, and *Lantana primulina* Moldenke is identified as a synonym of var. *nyassensis*); we identify *Lippia burtonii* Bak. as identical with *Lantana trifolia* Moldenke forma *congolensis* (Moldenke) R. Fernandes and also some specimens erroneously considered by MOLDENKE in that taxon are identified; we cite a new specimen of *Lippia hispida* Good, an endemic species of Angola, known only to this day from the type, and identify a specimen erroneously included by MOLDENKE in this species; we verify that the type of *Lippia lupuliformis* Moldenke is *Lantana rugosa* Thunb. and we identify other specimens referred to *Lippia lupuliformis* by MOLDENKE; we arrive to the conclusion that *Lippia pearsonii* Moldenke var. *sessilis* Moldenke is not a *Verbenaceae* but a species of *Labiatae* — *Hyptis baumii* Gürke; we establish the identity between *Lippia rehmannii*, *L. wilmsii*, *L. basiyana* and *L. pretoriensis*, all described by H. H. W. Pearson, choosing the name *L. rehmannii*, giving its synonymy and the list of angolan specimens; we present the synonymy of *L. woodii* Moldenke, a species confused with other ones by some authors, and the list of the specimens that we have seen; the type of *Lippia schliebenii* Moldenke is identified as a *Lantana* sp., other specimens erroneously cited by MOLDENKE in that species being also identified; we make the identification and typification of *Lippia kituiensis* Vatke and of *L. ukambensis* Vatke and we present the list of specimens of the first species that we have seen; finally, *Lantana scabrifolia* Moldenke is identified as *Lippia kituiensis*.

INTRODUCTION

EN préparant l'étude du genre *Lippia* L. pour Flora Zambesiaca et Conspectus Florae Angolensis, nous avons eu l'opportunité d'éclaircir certains problèmes concernant plusieurs taxa de ce genre et de vérifier aussi que quelques espèces décrites comme lui appartenant appartiennent en effect à d'autres genres (*Lantana* et *Hyptis*, une Labiée!); par contre, d'autres, incluses en *Lantana*, doivent être transférées dans *Lippia*. C'est le résultat de nos études que nous présentons dans le présent travail.

1. *Lippia baumii* Gürke in Warb., Kunene-Sambesi-Exped. Baum: 350 (1903).

Dans cette espèce nous distinguons trois variétés:

Var. *baumii*

Lippia baumii Gürke, sensu strict. — Moldenke, Résumé Verbenaceae: 461 (Taxonom. Index, 1959), excl. saltem distrib. in SW. Afr.; in Phytologia, 12: 97 (1965), excl. saltem specim. Baum 250; Fifth Summ. Verbenaceae: 890 (Taxonom. Index, 1971), excl. saltem distrib. in SW. Afr. (Namibia). — Richards & Morony, Check List Fl. Mbala: 238 (1969).

Lippia praecox Mildebr. ex Moldenke in Phytologia, 4: 292 (1953); op. cit.: 12: 356 (1965).

Lippia wilmsii H. H. W. Pearson var. *villosa* sensu Moldenke in Phytologia, 13: 175-176 (1966) quoad saltem specim. zambiens. Milne-Redhead 1155; Fifth Summ. Verbenaceae (1971) quoad saltem distrib. in Zambia. Non Moldenke (1953), neque *L. africana* Moldenke var. *villosa* Moldenke (1948).

Lippia wilmsii sensu Richards & Morony, Check List Fl. Mbala: 238 (1969).

Lippia sp. Richards & Morony, op. cit.: 239 (1969).

Descriptiones cl. auctorum (Gürke, loc. cit.; Moldenke in Phytologia, loc. cit., 1965) sic amplificandae et corrigendae:

Rami aliquando suberecti neque semper patuli, inferne longe nudi (primum internodium usque ad 12 cm longum); folia caulina mediana internodia aequantia vel longiora, 4,8-10 cm longa et 2-3 cm lata, lanceolata vel etiam oblongo-lanceolata, oblonga vel oblongo-obovata usque ovata, inferiora quam mediana multo minora, aliquando tantum 1,7 cm longa (vel in plantis praecociter evolutis aliquando breviora), basi \pm rotundata et aliquando contracta neque semper leviter angustata, margine in $1/2$ - $2/3$ superioribus late crenato-serrata vel obsolete crenata (in isotypis speciei crenulato-serrata), in $1/2$ - $1/3$ inferiore integra, apice obtusa, sed folia caulina infima apice rotundata et folia ramorum apice acutiuscula; nervi laterales 3-6 in utroque latere (sed 3-4 in foliis brevioribus et simul pro ration. latioribus), basilares valde adscendentes, supra \pm impressi, subtus ut reticulum \pm prominentes; pedunculi usque ad 18,5 cm longi neque tantum usque ad 11 cm longi, usque quam folia triplo longiores (sed in plantis praecociter evolutis usque ad 7-plo longiores) neque tantum duplo longiores,

aliquando suberecti neque semper divaricati; bractee inferiores aliquando subfoliaceae et margine \pm crenulatae, nervo mediano atque 1-2 lateralibus conspicuis; corolla (3,5)4-5,5 mm [sed in caulibus praecociter evolutis corolla 5-6(7) mm] longa, tubo saepe e basi ad apicem sensim ampliato, extus antice dense adpressopiloso, postice modice piloso, labiis inferne pilosis, superne laevibus vel papillosis.

Habitat etiam in Zambia unde specimina sequentia vidimus:

Zambia. N: Abercorn Distr.: «pans near Abercorn», alt. c. 1600 m, 20-I-1955, *Richards* 4183 (K); «Hillside above Ndundu», alt. 1500 m, 28-I-1962, *Richards* 15965 (K; SRGH); «rocks beyond Kawimbe, old Sumbawanga road», alt. 1740 m, 20-II-1967, *Richards* 22108 (BR; K); Mpika Distr., 28-I-1956, *Fanshawe* 1875 (BR; K; SRGH).

Les plantes de la Zambie ci-dessus mentionnées possèdent les feuilles en général plus longues et les pédoncules aussi plus longs, soit en valeur absolue soit relativement à la longueur de la respective feuille axillante que ceux du spécimen type de l'Angola¹; d'autre part, les crénelures de la marge des feuilles sont plus larges, mais moins profondes que chez les plantes de ce dernier pays. Cependant, nous croyons que ces différences ne justifient pas la séparation des spécimens de la Zambie dans une sous-espèce et moins encore dans une espèce indépendante.

À l'exception du spécimen *Richards* 4183 (K), correctement identifié sur l'étiquette comme *L. baumii*, les restants numéros de la Zambie cités plus haut se trouvaient déterminés dans les herbiers comme *L. wilmsii*. Néanmoins, le *L. baumii* se distingue très facilement soit du vrai *L. wilmsii* H. H. W. Pearson (= *L. rehmannii* H. H. W. Pearson), soit du *L. wilmsii* aucts.² (= *L. woodii*

¹ MOLDENKE (op. cit.: 97-98, 1965) cite le type de *Lippia baumii* (*Baum* 515) comme étant récolté dans le SW. Africa, quand il l'a été en Angola, près du Lac Ongombekike, entre les fleuves Cubango et Cuito (cf. Karte des Gebietes der Compagnie de Mossamedes in Warb., op. cit.); il y a aussi, dans sa citation du lieu de récolte, ce que nous supposons être une faute typographique puisque y figure Rubango à la place de Cubango. L'erreur s'est maintenue dans les ouvrages postérieurs du même auteur (cf. MOLDENKE, Résumé Verbenaceae: 152, 1958; Fifth Summ. Verbenaceae: 254, 1971), car le SW. Africa continue à être inclus dans l'aire de l'espèce, alors que celle-ci n'y a pas été trouvée jusqu'à ce jour.

² MOLDENKE a confondu le *L. wilmsii* avec son espèce *L. woodii*. Ainsi, les échantillons de la Zambie, du Zimbabwe, du Malawi et du Mozambique,

Moldenke) par les caractères suivants: forme différente des feuilles; pédoncules beaucoup plus longs que les feuilles (et non les égalant ou les dépassant de peu, ou bien plus courts que les feuilles); bractées relativement plus larges, planes et non un peu convexes à la floraison; corolles plus grandes [(3.5)5-7 mm longues et non 2.5-3.5 mm]. De plus, chez le *L. woodii*, le calice n'est pas uniformément apprimé-poilu, comme c'est le cas pour *L. baumii*, mais \pm glabre le long d'une zone médiane et pourvu de deux bandes latérales de poils relativement longs et forts.

Le spécimen *Richards* 22108, par ses feuilles plus larges et plus courtes, fait la transition vers le var. *nyassensis* R. Fernandes de *L. baumii*.

L. praecox Mildebr. ex Moldenke, dont le type (*Stolz* 2210) a été récolté à Kyimbila, dans la Tanzanie³, n'est probablement qu'une forme naine, réduite en toutes ses parties (tiges simples, délicates, hautes jusqu'à seulement 4.5 cm; feuilles petites; pédoncules jusqu'à 2.3 cm longs, mais plus longs que les feuilles; bractées jusqu'à 4.5 \times 3 mm), se développant précocement après les feux de brousse. En effet, presque tous les échantillons de ce taxon (nous avons vu les isotypes de B, BM, G, P, S et Z) possèdent, outre les courtes tiges florifères, la partie inférieure d'une ou de plusieurs tiges beaucoup plus épaisses, probablement développées à la saison précédente, avec l'extrémité supérieure carbonisée, montrant qu'elles avaient été brûlées. D'autres exemplaires, de la Zambie et un de la Tanzanie, tous à-peu-près avec les mêmes caractères que le type de *L. praecox*, ont été étudiés. Ils se trouvaient déterminés dans les herbiers comme *L. africana* Moldenke

qu'il a référés à la première espèce (cf. MOLDENKE in *Phytologia*, 13: 174, 1966), appartiennent au *L. woodii*. A cette même espèce appartiennent aussi *E. Cecil* 219 du Zimbabwe, et *Buchanan* 1381 et *Whyte* s. n. (Mt. Zomba) du Malawi, qui sont des paratypes de *L. wilmsii*. D'autres auteurs (BINNS, First Check List Herb. Fl. Malawi: 103, 1968; WILD in *Kirkia*, 5: 64, 1965; op. cit.: 7: 20 et 57, 1968-69; JACOBSEN in *Kirkia* 9: 172, 1973) ont suivi MOLDENKE et ont attribué à *L. wilmsii* des spécimens qui, en réalité, appartiennent au *L. woodii* Moldenke (v. notre étude plus détaillée sur ces taxa dans les p. 260-262).

³ Une fois de plus, MOLDENKE s'est trompé dans la localisation d'une place de récolte. En effet (loc. cit., 1953; op. cit.: 358, 1965), il situe Kyimbila au Malawi, tandis que cette localité appartient à la Tanzanie, ayant les coordonnées géographiques 9° 17' lat. S et 33° 39' long. E (cf. Off. Stand. Names Gazetteer).

(= *L. wilmsii* = *L. rehmannii*) var. *villosa* Moldenke, à l'exception de *Fanshawe* 8866 (K), identifié sur l'étiquette comme *L. wilmsii*, et de *Mutumushi* 864 (K; SRGH), sans détermination. Toutefois, en mettant de côté la réduction de presque toutes les parties, *Fanshawe* 8866 présentait les mêmes différences relatives au vrai *L. wilmsii* (= *L. rehmannii*) et au *L. wilmsii* auct. (= *L. woodii*) que nous avons signalées plus haut en faisant la confrontation entre ces taxa et les individus normaux de *L. baumii*. En ce qui concerne le vrai *L. wilmsii* var. *villosa* (Moldenke) Moldenke (= *L. africana* Moldenke var. *villosa* Moldenke), nous avons constaté que, par les caractères de l'indument, de la longueur des pédoncules, de la forme et dimensions des bractées et, surtout, du calice, son type (*Holm* 32, s), qui est un échantillon de l'Ouganda à tiges précoces, développées après les feux de brousse, nous semble être plutôt une forme du *L. woodii*, semblable à d'autres de l'aire de la Flora Zambesiaca conditionnés aussi par ces feux⁴.

Les plantes naines de la Zambie et une de la Tanzanie que nous avons vues n'ont donc rien à faire avec le type de *L. wilmsii* var. *villosa*⁵, mais elles représentent, selon notre interprétation, une forme de *L. baumii* var. *baumii*, ce qui est confirmé par le fait que des individus normaux de cette espèce peuvent être trouvés, au moins en Zambie, dans les mêmes localités.

Étant donné qu'il y a beaucoup de récoltes de plusieurs endroits de plantes de *L. baumii* à taille réduite, une certaine variation est observée chez elles, laquelle ne se vérifiait pas chez le type de *L. praecox*, qui est représenté par une seule récolte d'une même place. Ainsi, les feuilles, les épis, les bractées et

⁴ Pour éclaircir le problème de l'identification du var. *villosa*, il faut étudier d'autres plantes du Mont Elgon, son *locus classicus*.

⁵ Il faut signaler que MOLDENKE inclut, en 1966, dans son *L. wilmsii* var. *villosa* des plantes appartenant encore à d'autres taxa. Des échantillons cités par lui (in *Phytologia*, 13: 176, 1966) et qui ont été examinés par nous, *Maas-Geesteranus* 4786 (COI), du Kenya, appartient au *L. woodii*, un échantillon *Dekindt* 710 (LISC) est le *L. rehmannii* (= *L. wilmsii*), mais un autre échantillon du même numéro de LISC et celui de P appartient au *L. pearsonii* Moldenke, et *Milne-Redhead* 1155 est la forme naine de *L. baumii*. Il est probable que, au moins, quelqu'un des autres spécimens cités par MOLDENKE dans sa variété ne lui puissent être aussi référés. On doit remarquer encore que le type (*Holm* 32) du var. *villosa* Moldenke ne possède pas les épis larges de 13 mm, comme l'auteur l'affirme dans la description, mais seulement de c. 10 mm.

les corolles de certains exemplaires de port réduit s'approchent parfois plus de celles du type de *L. baumii* que de celles du type de *L. praecox*. Nous donnons ci-dessous la liste de ces plantes dont la plupart sont naines:

Tanzanie. S: Highland, Iringa, 30-X-1947, *Brenan & Greenway* 8244 (K); Kyimbila, alt. 1350 m, 1912, *Stolz* 2210 (B; BM; G; P; S; Z, isotypes de *L. praecox*). **Zambie.** N: Abercorn, 10-VII-1964, *Mutumushi* 864 (K; SRGH; «suffrutex to 5 cm, forming colonies in recently burnt out Protea grassland..., all parts hairy, the hairs white..., fl. yellow»); Mpulungu-Abercorn road near turning to Kasama, alt. c. 1600 m, 11-X-1954, *Richards* 2015 (K; «in open dry burnt ground; short herbaceous plant; stem and leaves densely hairy with long soft white hairs»); Abercorn, old aerodrom, alt. 1600 m, 13-XII-1954, *Richards* 3617⁶ (K; «in open sandy ground burnt in August; height 14 inches...); Old Kasama road close to turning from Abercorn, alt. 1500 m, 1-X-1956, *Richards* 6326⁷ (K; «in dry open burnt ground...»). W: Distr. Solwezi, 15-VIII-1953, *Fanshawe* 234 (K; «flowering shoots to 7.5 cm from thick woody rootstock on open loamy dambo edge, lately burnt...»); Solwezi, 30-VII-1964, *Fanshawe* 8866⁸ (K; «suffrutex from limestone chipya, 5-7.5 cm»); Distr. Solwezi, Solwezi Dambo, 20-IX-1930, *Milne-Redhead* 1155 (BR; K; «dry open burnt ground, perennial with thick rootstock»). E: Mbisi, alt. c. 2240 m, 6-X-1950, *Bullock* 3418 (K; «abundant but somewhat local on fireswept eroded hillside; tufted from a woody rootstock»).

On doit encore remarquer que, tandis que le var. *baumii* normale a été récolté en Décembre-Janvier (3 récoltes) et Février, la forme naine fut trouvée en fleur en Juillet, Août, Septembre, Octobre (3 fois) et Décembre (1 fois — transition vers la forme normale).

Var. nyassensis R. Fernandes, var. nov.

Lippia baumii sensu Binns, First Check List Herb. Fl. Malawi: 103 (1968) pro parte quoad distrib. in Distr. Mzimba et Nkata Bay.

Lantana primulina Moldenke in Phytologia, 28: 402 (1974).

A var. *baumii* pilis indumenti longioribus et densioribus, caulibus e caudice lignoso plurimis, usualiter simplicibus neque ramosis; internodiis brevioribus; foliis brevioribus sed pro ratione latioribus, late ovatis usque subrotundatis neque lanceolatis usque

⁶ Cet échantillon, par la longueur de ses tiges, fait la transition vers le type du var. *baumii*. Cependant, les tiges sont simples et non ramifiées.

⁷ Les tiges de cet échantillon ne mesurent que 2-2.5 cm d'hauteur.

⁸ De tous les spécimens cités ici, celui-ci est le seul fructifié.



oblongo-obovatis, medianis $2,5-4,5 \times 2-3,5$ cm neque $4,8-10 \times 2-3$ cm, saepe internodiis longioribus, basi nunquam angustatis sed rotundatis atque contractis; nervis lateralibus in utroque latere usque 4 neque 3-6; pedunculis usualiter brevioribus, usque ad 14 cm neque usque ad 18,5 cm longis, saepe crassioribus et rigidioribus; spicis majoribus aliquando elongatis, usque ad 3 cm longis et 1,3 cm in diam.

In hac varietate pyrenae (in typo speciei non visae) $2-2,5 \times 1,25-1,75$ mm, latere externo valde convexae et castaneae ac sub-lucidae, in commissura planae, albaeque.

Habitat in Malawi, «Vipya Plateau», loco Mzimba, ubi die 25-IV-1967, a *Salubeni* sub n° 653 collecta. Holotypus in SRGH; isotypi in BR, K et LISC.

Specimina alia visa:

Malawi. N: «Chitipa Distr., Mafinga Mts», alt. 2135 m, 2-III-1982, *Brummitt & Polhill* 16232 (K); «Mafinga Hills», alt. 1850 m, 11-III-1961, *Robinson* 4452 (BR; K; M); «Nkata Bay Distr., Vipya, 51,448 km SW. of Mzuzu», alt. c. 1856 m, 26-II-1967, *Pawek* 884 (K); «Vipya link road, 86,886 km S. of Mzuzu», alt. 1600 m, 8-XII-1971, *Pawek* 4416 (K); «Nkata Bay Distr., 49,879 km SW. of Mzuzu, Vipya Plateau», alt. c. 1800 m, 27-III-1976, *Pawek* 10950 (BR; K; SRGH); «Nkata Bay Distr., Vipya Plateau, 49,879 km SW. of Mzuzu», alt. c. 1760 m, 3-VII-1976, *Pawek* 11409 (K); «Mzimba Distr., S. Vipya Plateau, 11 km S. of Chikangawa on link road to Luwawa», alt. c. 1740 m, 8-V-1970, *Brummitt* 10460 (BR; K).

Var. *niykensis* R. Fernandes, var. nov.

Lippia baumii sensu Binns, First Check List Herb. Fl. Malawi: 103 (1968) pro parte quoad distrib. in Distr. Rumpi.

A typo caulibus brevibus, gracilibus neque \pm validis, usque ad 30 cm neque usque ad 65 cm altis, simplicibus vel ramulis brevibus munitis neque longe ramosis; foliis subrhombicis vel late ovatis neque lanceolatis usque oblongo-obovatis, medianis usque ad $5 \times 2,7$ cm neque $4,8-10 \times 2-3,5$ cm, apice rotundatis neque aliquando obtusis vel acutiusculis, basi cuneatis, breviter petiolatis neque basi angustatis vel rotundatis et sessilibus vel subsessilibus; pedunculis brevioribus, interdum folium axillans paullo superantibus; bracteis externis tenuioribus, pro ration. latioribus (usque ad 10×6 mm); corolla paullo longiore 7-8(8,75) mm longa neque (3,5)4-5,5 mm longa, atromagentea neque albo-lutea vel

intense lutea, tubo cylindrico paullo ampliato neque e basi ad apicem \pm valde ampliato, praecipue differt.

Habitat in Malawi, «Rumpi Distr., Nyika Plateau, road to *Juniper* forest», alt. 2496 m, ubi die 8-I-1974, a *Pawek* sub numero 7872 collecta. Holotypus in SRGH.

Specimina alia visa:

Malawi. N: «Rumpi Distr., Nyika, 24,135 km out on Kassaramba view road», alt. 2432 m, 26-XII-1966, *Pawek* 752 (SRGH); «Rumpi Distr., Nyika, *Juniper* forest», alt. c. 2430 m, 22-XII-1969, *Pawek* 3318 (K).

Differt a var. *nyassensi* praecipue indumento sparsiore; caulibus gracilioribus; foliis plerumque subrhombicis basi cuneatis neque basi rotundatis et contractis, breviter sed distincte petiolatis neque sessilibus vel subsessilibus; pedunculis brevioribus; corolla longiore, magentea neque lutea.

2. Identification de *Lippia burtonii* Bak. (in Fl. Trop. Afr. 5: 281, 1900).

Le type de ce taxon, existant à K, a été récolté au Zaïre, à Mondanda⁹. Il est représenté seulement par le fragment d'une tige (ou d'un rameau) possédant 4 noeuds à feuilles 3-verticillées, dont les deux derniers fleurifères. Au contraire de ce qui affirme BAKER (loc. cit.), les feuilles ne sont pas sessiles mais courtement pétiolées, à pétiole jusqu'à 5 mm long. Les épis se disposent sur des pédoncules jusqu'à 1.5 cm longs, (1?)2 par aisselle. Par les corolles à tube relativement long (c. 6 mm) et limbe assez ample, par la forme oblongue des anthères et par leur position à-peu-près au milieu du tube de la corolla, cet échantillon n'appartient pas au genre *Lippia*, mais au genre *Lantana*. Sa comparaison avec le type de *Lantana mearnsii* var. *congolensis* Moldenke et avec d'autres plantes du même taxon du Zaïre et de l'Angola, nous a permis d'arriver à la conclusion qu'il est identique à ce dernier taxon. Cependant, selon notre opinion, le var. *congolensis* ne

⁹ Dans le Off. Stand. Names Gazetteer concernant le Zaïre, il ne se trouve aucune localité appelée Mondanda, mais deux Mandanda, avec, respectivement, les coordonnées géographiques 3° 3' lat. S — 26° 46' long. E et 8° 2' lat. S — 17° 44' long. E.

doit pas être subordonné au *Lantana mearnsii* Moldenke mais au *L. trifolia* L.¹⁰

MOLDENKE (in *Phytologia*, 12: 106, 1965) réfère au *L. burtonii* deux autres échantillons du Zaïre, *Deschamps* 45 (BR), de Katea et *Quarré* 1370 (BR), de Menama (Katanga). La présence de fruits drupacés chez *Deschamps* 45 ne permet pas son inclusion dans *Lippia*; de plus, ses corolles, à tube relativement long et couleur mauve (d'après l'étiquette), couleur rare chez les espèces africaines de *Lippia*, mais fréquente chez celles de *Lantana*, confirment l'idée qu'il ne s'agit pas d'un taxon du premier genre, mais du second. Par les bractées des épis assez larges et par la forme et les dimensions des feuilles, le dit échantillon appartient ou à *Lantana rhodesiensis* Moldenke ou à une espèce proche de celle-ci. Quant à *Quarré* 1370, il est une espèce de *Lippia* que nous n'avons pas pu identifier, non seulement par le fait que les épis sont encore très jeunes, mais parce que nous n'avons pas fait l'étude de ce genre du Zaïre¹¹.

Outre ces deux spécimens du Zaïre, MOLDENKE (loc. cit.) cite dans *L. burtonii* l'échantillon *Dalziel* 696 (K), de la Nigérie du Nord (Abinsi), lequel avait été référé par HUTCHINSON & DALZIEL (*Fl. W. Trop. Afr.* 2, 1: 269, 1931)¹² au *Lantana salvifolia* Jacq.

¹⁰ Nous envisagerons ce cas avec plus de détail dans un prochain article sur le genre *Lantana*. Maintenant, pour l'effet de la priorité, nous présentons ici la nouvelle combinaison:

***Lantana trifolia* L. forma *congolensis* (Moldenke) R. Fernandes, comb. et statu nov.**

Basion.: *Lantana mearnsii* Moldenke var. *congolensis* Moldenke in *Phytologia* 2: 313 (1947). Holotypus: Zaïre, Congo da Lemba, 24-IV-1913, *Feller* A.46 (BR). Isotypus (US).

Syn. nov.: *Lippia burtonii* Bak. in *Fl. Trop. Afr.* 5: 281 (1900). Holotypus: Zaïre, Mondanda, IX-1863, *Burton* s. n. (K).

¹¹ Il est un peu étrange que MOLDENKE ait déterminé ce spécimen comme *L. burtonii* car il en diffère beaucoup même à la simple vue: indument de la tige différent; feuilles opposées (et non 3-verticillées), relativement plus courtes et plus larges; pédoncules solitaires et non 2 par aisselle; bractées plus larges et non atténuées-acuminées; corolles plus petites, à tube long de ± 2.5 mm contre 6 mm chez le type de *L. burtonii*.

¹² Ces mêmes auteurs réfèrent aussi au *Lantana salvifolia* l'exemplaire *Dalziel* 695 (K), récolté à la même localité, en Septembre 1912, tandis que le n° 696 (selon l'étiquette) l'avait été en Mars 1912. Est-ce que *Dalziel* a