

(= *L. rugosa* Thunb.). L'étude de ce numéro nous a porté à conclure qu'il appartient à un *Lantana*, mais non au *L. salvifolia* comme le croyaient HUTCHINSON & DALZIEL. Par les pédoncules très courts et quelques autres caractères, il se rapproche de *L. rhodesiensis* Moldenke, dont il diffère par d'autres, les plus importants étant les dimensions et la forme des bractées inférieures des épis, relativement plus étroites que chez le *L. rhodesiensis*, par leur apex terminant en pointe bien plus fine que chez cette espèce (ce dernier aspect est encore plus marqué dans les bractées suivantes et particulièrement dans les supérieures). MEIKLE (in Fl. W. Trop. Afr. éd. 2, 2: 437, 1963) attribue au *L. rhodesiensis* le spécimen Dalziel 695, qui est identique au 696, mais ne cite pas ce dernier soit dans cette espèce, soit dans quelque autre. Nous nous occuperons de l'identification des plantes de l'Afrique occidentale attribuées au *L. rhodesiensis* dans un prochain article sur les *Lantana* africaines. En ce qui concerne Peter 51781 (B), aussi référé par MOLDENKE au *Lippia burtonii*, nous ne pouvons pas nous prononcer, puisque nous ne l'avons pas observé.

3. Note sur le *Lippia hispida* Good (in Journ. of Bot. 68, Suppl. 2: 139, 1930).

Cette espèce, que nous croyons endémique de l'Angola, était connue jusqu'à ce jour seulement d'après le type [*Gossweiler* 2362 (BM, holotype; K, isotype)]. En révisant de genre *Lantana* de ce pays, nous avons trouvé inclus comme *Lantana* sp. un autre échantillon de l'espèce de GOOD:

Huila: Hochland zwischen Ganda und Caconda, alt. c. 1700 m, 1932-1933, *Hundt* 295 (COI).

MOLDENKE (in *Phytologia* 48: 174, 1981) attribue au *Lippia hispida* les exemplaires *Dahlstrand* 181 et 1299, du Transvaal, lesquels nous n'avons pas pu étudier. Toutefois, nous doutons qu'ils lui puissent être attribués. Quant à *Pritchard* 306 de l'Angola (Huila), aussi référé au *L. hispida* par le même

---

fait confusion avec les dates de récolte, le n° 695 étant récolté en Mars et logiquement le suivant (n° 696) en Septembre?

auteur (in *Phytologia* 39: 96, 1978), il appartient au *L. pearsonii* Moldenke<sup>13</sup>.

#### 4. Identification de *Lippia lupuliformis* Moldenke

Ce taxon a été décrit dans *Phytologia* (2: 470, 1948) et maintenu par l'auteur dans des travaux postérieurs (*Phytologia* 12: 264, 1965, Résumé Verbenaceae: 462, 1959; Fifth Summ. Verbenaceae: 892, 1971), des spécimens de la Tanzanie (*Hornby & Hornby* 574; *Peter* 580, 2122, 51797), du Kénya (*Dummer* 5046), de l'Angola (*Santos* 105) et du Natal (*Rudatis* 1145, type de l'espèce) y étant alors inclus. L'étude de l'holotype (s), seul échantillon référé au *L. lupuliformis* par MOLDENKE lors de sa publication en 1948, et de deux isotypes (BM; K) nous a montré qu'ils n'appartiennent pas à une espèce du genre *Lippia* mais au *Lantana rugosa* Thunb., comme d'ailleurs R. D. MEIKLE l'affirmait en 1968 dans une note manuscrite sur la couverture de l'échantillon de K. En ce qui concerne *Hornby & Hornby* 574 (K) et *Dummer* 5046 (K), ils sont un *Lantana* sp., mais non le *L. rugosa*, et *Santos* 105 (K) de l'Angola appartient au *Lippia rehmannii* H. H. W. Pearson (cf. p. 260-261)<sup>14</sup>.

On voit donc, que, sous *L. lupuliformis* Moldenke, l'auteur a inclus, en 1965, au moins, trois taxa différents.

#### 5. Identification de *Lippia pearsonii* Moldenke var. *sessilis* Moldenke.

Ce taxon a été décrit par MOLDENKE dans *Phytologia* (12: 343, 1965) et il a été maintenu par l'auteur dans des travaux postérieurs (Fifth Summ. Verbenaceae: 244, 1971; in *Phytologia*, 39: 393, 1978; op. cit. 48: 256, 1981). Son type est l'échantillon *B. Teixeira & Andrade* 6652 (LISC, holotype), récolté à Caputo, Huambo (Angola), le 9-V-1962. L'étude de ce spécimen nous a montré qu'il n'appartient pas à la fam. *Verbenaceae*, mais qu'il

<sup>13</sup> Le même numéro de *Pritchard* avait été référé plus tôt, aussi par MOLDENKE, au *L. nigeriensis* var. *brevipedunculata* Moldenke (in *Phytologia* 12: 306, 1965) et au *L. savoryi* Meikle (tom. cit.: 458-460, 1965), dont le var. *brevipedunculata* n'est qu'un synonyme. Le *L. savoryi* est une espèce connue seulement de la Nigérie du Nord.

<sup>14</sup> Nous n'avons pas pu étudier les échantillons *Peter* (B).

s'agit de l'*Hyptis baumii* Gürke, de la fam. *Labiatae*, dont le type (Baum 789, isotype dans COI) a été trouvé aussi à l'Angola, mais à Onschingue, dans les marais du fleuve Cuito, le 1-IV-1900. Ce qui a porté MOLDENKE à considérer le spécimen de Caputo comme un *Lippia* a été certainement la disposition des fleurs en épis denses et courts, à l'aisselle des feuilles supérieures. Cependant, la seule observation du calice, à 5 dents à-peu-près égales, et non bilobé comme est le cas usuel des *Lippia*, lui permettrait de vérifier qu'on n'était pas en présence d'une espèce de ce dernier genre.

*Hyptis baumii*, où le *Lippia pearsonii* var. *sessilis* doit être inclus comme un synonyme, est une espèce endémique de l'Angola, décrite par GÜRKE dans Warburg, Kunene-Sambesi-Expedition, Baum: 354 (1903).

#### 6. Identification de *Lippia rehmannii* H. H. W. Pearson et de *L. woodii* Moldenke.

L'étude du type de *L. wilmsii* H. H. W. Pearson (Wilms 1180, récolté à Lydenburg, Transvaal) nous a montré qu'il est différent d'autres exemplaires que l'auteur de l'espèce a introduits dans la même (in *Flora Capensis* 5, 1: 196, 1901). Tels sont Whyte s. n. et Buchanan 1381 du Malawi, E. Cecil 219 du Zimbabwe et Scott-Elliot 6484 d'Ukamba (Kénya), lesquels appartiennent au *L. woodii* Moldenke. D'autre part, les spécimens de la Zambie, du Malawi, Zimbabwe et Mozambique, référés par MOLDENKE (in *Phytologia* 13: 174, 1966) au *L. wilmsii* et dont la plupart a été étudiée par nous, appartiennent aussi au *L. woodii*, espèce où, d'ailleurs, MOLDENKE incluait déjà Buchanan 1381<sup>15</sup>.

L'observation du type de *L. rehmannii* H. H. W. Pearson (Rehmann 4259, de Aapies River, Pretoria, Transvaal), espèce décrite à la suite de *L. wilmsii* (op. cit.: 196, 1901), nous a révélé qu'il ne diffère de celui de cette dernière que par des détails négligeables, les deux appartenant, d'après notre opinion, à une même entité. Étant donné que, dans *L. wilmsii*, ont été inclus

<sup>15</sup> MOLDENKE attribue aussi au *L. wilmsii* (= *rehmannii*) des échantillons de la Tanzanie et du Ruanda, que nous n'avons pas vus. Mais, étant donné que *L. wilmsii* est une espèce particulièrement de l'Afrique australe et du sud de l'Angola, il est possible qu'ils n'appartiennent pas à ce taxon.

des échantillons de *L. woodii* non seulement par PEARSON, mais aussi par MOLDENKE et que cette fausse interprétation de *L. wilmsii* a été suivie par d'autres auteurs (BINNS, First Check List Herb. Fl. Malawi: 103, 1968; WILD in *Kirkia* 5: 64, 1965; op. cit. 7: 20 et 57, 1968-1969; JACOBSEN, op. cit. 9: 172, 1973), nous avons adopté pour la dite entité le nom *L. rehmannii* H. H. W. Pearson.

De plus, *L. pretoriensis* H. H. W. Pearson (op. cit.: 197) et *L. bazyiana* H. H. W. Pearson (loc. cit.), dont les types, respectivement, *Rehmann* 4523, aussi de Pretoria (comme celui de *L. rehmannii*), et *Baur* 462 du Cap, ont été étudiés par nous, sont encore identiques au *L. rehmannii*, l'identité entre cette espèce et *L. bazyiana* étant déjà établie auparavant par MOLDENKE (in *Phytologia* 12: 434, 1965).

D'après nos études, le *L. rehmannii* se distribue en Afrique du Sud (Natal, Transvaal, Cap), en Namibie et Angola (Huila et Cubango). Néanmoins, MOLDENKE a attribué quelques échantillons angolais de cette espèce à d'autres taxa. Ainsi, *Barbosa & Moreno* 10167 et *Henriques* 49 ont été cités par lui (in *Phytologia* 12: 306, 1965) comme *Lippia nigeriensis* var. *brevipedunculata* Moldenke et, plus loin, dans la même publication (op. cit.: 458-460), comme *L. savoryi* Meikle. Or, cette espèce, dont le var. *brevipedunculata* Moldenke n'en est qu'un synonyme, est connue seulement de la Nigérie du Nord (cf. MEIKLE in *Kew Bull.* 17: 173-174 (1963)<sup>16</sup>. Deux échantillons de l'Angola, *Santos* 105 et *Dekindt* 710 (LISC, pro parte), appartenant encore au *L. rehmannii*, ont été cités, respectivement, comme *L. lupuliformis* Moldenke (in *Phytologia* 12: 265, 1965) et comme *L. wilmsii* var. *villosa* Moldenke (in *Phytologia* 13: 176, 1966)<sup>17</sup>.

Quant à *Baum* 250, appartenant au *L. rehmannii* et récolté en Angola, à Bale (Huila), et non dans la Namibie comme MOLDENKE le réfère, a été l'objet de plusieurs interprétations: GÜRKE (in *Warburg, Kunene-Samb.-Exped. Baum*: 349, 1903) l'attribue au *L. asperifolia* Marthe [= *L. javanica* (Burm. f.) Spreng.]; MOL-

<sup>16</sup> *Pritchard* 306, aussi de l'Angola, référé aux mêmes taxa par MOLDENKE (loc. cit., 1965), appartient au *L. pearsonii* Moldenke. Le même numéro de *Pritchard* fut cité plus tard (in *Phytologia*, 39: 96, 1978) comme *L. hispida* Good (cf. pag. 255-256 de cet article).

<sup>17</sup> Un autre échantillon du même numéro de *Dekindt* de LISC et celui de P appartiennent au *L. pearsonii*. *Lippia lupuliformis* Moldenke est une espèce de *Lantana* (cf. pag. 256 de cet article).

DENKE (in *Phytologia* 12: 98, 1965) inclut le spécimen de BR dans *L. baumii* Gürke, ceux de K et NY (in *Phytologia* 13: 174, 1966) dans *L. wilmsii*, considéré par lui comme une «bonne» espèce et non comme identique au *L. rehmannii*, celui de M dans *L. javanica* (in *Phytologia* 39: 105, 1978) et finalement les mêmes échantillons de K et NY, correctement (in *Phytologia* 39: 447, 1978), dans *L. rehmannii*. C'est-à-dire, une seule récolte, dont tous les échantillons appartiennent à la même espèce — *L. rehmannii* — a subi quatre différentes interprétations par le même botaniste, desquelles trois étaient erronnées.

*L. woodii* Moldenke se sépare aisément de *L. rehmannii* particulièrement par les caractères de son calice, lequel est tronqué au sommet et pourvu de poils blancs assez longs et forts, disposés comme deux touffes de l'un et l'autre côté, tandis que sa partie médiane est glabre ou presque. Le fait que PEARSON (op. cit.: 193), dans les clefs des espèces de *Lippia*, placer *L. rehmannii* (ainsi que *L. pretoriensis*, *L. wilmsii* et *L. baziyana*) dans un groupe à calice «truncate, subtruncate or obscurely 2-lobed», résulte d'avoir inclus dans *L. rehmannii* (sub *L. wilmsii*) des échantillons de *L. woodii*. Le calice du vrai *L. rehmannii* est plus ou moins 2-lobé, plus comprimé, uniformément couvert par des poils moins denses, plus courts, plus fins que chez le *L. woodii* et d'un blanc un peu sale. D'autres caractères qui distinguent *L. woodii* de *L. rehmannii* sont: feuilles plus grandes (relativement plus longues mais plus étroites), en noircissant par le séchage, séparées par entrenœuds plus longs chez le *L. woodii*; pédoncules généralement plus courts que les feuilles chez le *L. woodii*, tandis que ceux de *L. rehmannii* les égalent souvent ou les excèdent; bractées plus longues et plus étroites, atténuées dans une pointe assez longue, les supérieures en se groupant comme une petite «coma», à l'extrémité des épis chez le *L. woodii*, une telle disposition n'existant pas chez le *L. rehmannii*.

Mais la confusion la plus grave a été commise par HIERN (Cat. Afr. Pl. Welw. 4: 829, 1900), lequel réfère au *Lantana viburnoides* (Forsk.) Vahl l'échantillon *Welwitsch* 5762 récolté en Angola («in dumetis Lopollo, Dec. 1859-Jan. 1860»), qui appartient au *Lippia rehmannii*. HIERN affirme que, par le fait que le spécimen n'est pas en fruit, sa détermination est douteuse. Cependant,

l'exemplaire de LISU est fructifié et son identification comme un *Lippia* n'offre aucun<sup>18</sup> doute.

Pour mieux contribuer à l'éclaircissement de l'identification de ces deux espèces — *L. rehmannii* et *L. woodii* — nous présentons ci-dessous leur respective synonymie :

***Lippia rehmannii*** H. H. W. Pearson in Fl. Cap. 5, 1: 196 (1901). — Moldenke in Phytologia 3: 458 (1951); op. cit. 12: 434-436 (1965), excl. specim. zairens. *Bredo* 5576; op. cit. 39: 105 et 444-447 (1978); Résumé Verbenaceae: 152 et 154 (1958); Fifth Summ. Verbenaceae: 255 et 257 (1971). — Letty, Wild Fl. Transv.: 281, t. 140 fig. 4 (1962). — Watt & Br.-Brandw., Medic. Poison. Pl. S. & E. Afr. éd. 2: 1052 (1962).

*Lantana viburnoides* sensu Hiern, Cat. Afr. Pl. Welw. 4: 829 (1900) quoad specim. *Welwitsch* 5762, non (Forssk.) Vahl (1790).

*Lippia wilmsii* H. H. W. Pearson, loc. cit. (1901), excl. saltem specim. malawiens. et zimbabwens. — Moldenke in Phytologia 13: 171-174 (1966), excl. saltem specim. zambiens., zimbabwens., malawiens. et mossambissens.; op. cit. 40: 202-204 (1978), excl. saltem specim. zimbabwens.; Résumé Verbenaceae: 152 et 154 (1958); Fifth Summ. Verbenaceae: 254 et 257 (1971). — Fr.-Holzhammer in Prodr. Fl. SW. Afr., Fam. 122: 8 (1967). — Schijff, Check List Vasc. Pl. Kruger Nat. Park: 81 (1969).

*Lippia baziyana* H. H. W. Pearson, op. cit.: 197 (1901), «bazeiana». — Moldenke, Résumé Verbenaceae: 310 (1959); in Phytologia 12: 434 (1965).

*Lippia pretoriensis* H. H. W. Pearson, loc. cit. — Moldenke, Résumé Verbenaceae: 154 (1958); Fifth Summ. Verbenaceae: 257 (1971). — Watt & Br.-Brandw., loc. cit. (1962).

*Lippia asperifolia* sensu Gürke in Warb., Kunene-Samb.-Exped. Baum: 349 (1903). — ?Gossweiler & Mendonça, Cart. Fitogeogr. Angol.: 187 (1939). Non Marthe (1801).

*Lippia africana* Moldenke in Phytologia 2: 469 et 483 (1948); op. cit. 3: 77 (1949).

*Lippia baumii* sensu Moldenke in Phytologia 12: 98 (1965) quoad *Baum* 250 pro parte (specim. in BR), non Gürke (1903).

*Lippia lupuliformis* sensu Moldenke in Phytologia 12: 265 (1965) quoad specim. angol. *Santos* 105, non Moldenke (1948).

*Lippia nigeriensis* var. *brevipedunculata* sensu Moldenke in Phytologia 12: 306 (1965) quoad specim. angol. *Barbosa & Moreno* 10167 et *Henriques* 49, non Moldenke (1950).

<sup>18</sup> L'autre échantillon — *Welwitsch* 5751 — mentionné par HIERN (loc. cit.) dans *Lantana viburnoides* appartient au *Lippia pearsonii* Moldenke.

*Lippia savoryi* sensu Moldenke in *Phytologia* 12: 458-460 (1965) quoad specim. angol. *Barbosa & Moreno* 10167 et *Henriques* 49; ?etiam quoad specimina transvaal. (a nobis non visa) in *Phytologia* 40: 58 (1978) cit.? Non Meikle (1963).

*Lippia wilmsii* var. *villosa* sensu Moldenke in *Phytologia* 13: 176 (1966) quoad specim. angol. *Dekindt* 710 (LISC, pro parte), non *L. africana* var. *villosa* Moldenke (1948).

*Lippia javanica* sensu Moldenke in *Phytologia* 39: 105 (1978) quoad *Baum* 250 pro parte (specim. in M), non (Burm. f.) Spreng. (1825).

Outre les types de *L. wilmsii*, *L. baziyanana*, *L. pretoriensis* et *L. africana*, tous des synonymes de *L. rehmannii*, nous avons vu les échantillons suivants de ce taxon:

**Angola.** HUILA: *Barbosa & Moreno* 10167 (COI; LISC); *Capello & Ivens* 25 (COI); *Couto* 241 (K); *Dekindt* 710 pro parte (LISC); *Henriques* 49 (K; LISC; LISU), 352 (COI; LISC; LISU) et 1298 (LISC); *Kers* 3229 (LISC; S); *Menezes* 3252 (K; P); *Santos* 105 (LISC); *Santos & Barroso* 2879 (COI; LISC); *Welwitsch* 5762 (LISU). CUBANGO: *Baum* 250 (BM; BR; COI; K; M; Z).

*Lippia woodii* Moldenke in *Phytologia* 2: 318 (1947); op. cit. 13: 176-177 (1966); *Fifth Summ. Verbenaceae*: 248, 250 et 257 (?) (1971).

*Lantana salvifolia* sensu Bak. in *Fl. Trop. Afr.* 5: 276-277 (1900) quoad specim. *Buchanan* 245, non Jacq. (1798).

*Lippia wilmsii* sensu H. H. W. Pearson in *Fl. Cap.* 5, 1: 196 (1901) quoad *Whyte* s. n., *Buchanan* 1381, *E. Cecil* 218 et ?*Scott-Elliot* 6484. — Moldenke in *Phytologia* 2: 469 et 483 (1948); op. cit. 3: 77 (1949); tom. cit.: 457 et 458 (1951) quoad saltem distrib. in Zambia, Zimbabwe et Mossambique; op. cit. 13: 171 et 174 (1966); op. cit. 40: 202 et 204 (1978) pro parte, quoad saltem specim. in Zambia, Malawi, Zimbabwe et Mossambique collecta; *Fifth Summ. Verbenaceae* pro parte quoad saltem pag. 246, 248, 250 et 252 (1971). — Binns, *First Check List Herb. Fl. Malawi*: 103 (1968). — Wild in *Kirkia* 5: 64 (1965); op. cit. 7: 20 et 57 (1968-1969). — Jacobsen in *Kirkia* 9: 172 (1973). Non H. H. W. Pearson (1901).

*Lippia africana* sensu Moldenke in *Phytologia* 2: 469 (1948) quoad specim. in area Fl. Zamb. collecta. — Wild, *Guide Fl. Vict. Falls*: 158 (1953). — Binns, loc. cit. Non Moldenke (1948).

*Lippia wilmsii* var. *scaberrima* sensu Moldenke in *Phytologia* 3: 458 (1951) quoad distr. in Zimbabwe; op. cit. 13: 175 (1966) quoad saltem specim. zimbabwens. *Young* 882 et excl. specim. *Whyte* s. n. (in Nyika Plateau coll.); *Fifth Summ. Verbenaceae*: 248 (1971). Non

Moldenke (1953) neque *L. africana* var. *scaberrima* Moldenke (1948).

*Lippia wilmsii* var. *villosa* sensu Moldenke in *Phytologia* 13: 176 (1966) quoad saltem *Maes-Geesteranus* 4786 non Moldenke (1953)<sup>19</sup>.

Nous avons vu les échantillons suivants de *L. woodii*:

**Zambie:** Allen 324 (K; PRE); Astle 1670 (SRGH) et 4360 (K); Best 195 (K); Brennan & Greenway 7719 (FHO; K); Drummond & Cookson 6682 (E; K; LISC; SRGH); Fanshawe 4500 (BR; K; SRGH) et 8019 (K); Galpin 15119 (K; PRE); Kassom 4 (K); King 108 et 256 (K); LNHCI 155 (SRGH); Mitchell 24/63 (B; LMU; SRGH); Mutimushi 2166 (K); Robinson 409 (BR; K); Robson 746 (BM; BR; K; LISC; SRGH); Rogers 8551 (K; Z); Strid 2150 et 2511 (K); Trapnell s. n. (K); van Rensburg 1154 et 2340 (K; SRGH); White 3467 (BR; FHO; K) et 7031 (FHO; K); Winterbottom 67 (K). **Zimbabwe:** Basera 236 (SRGH); Best 531 (SRGH); Biegel 1410 (SRGH); Boughey 448 (K; SRGH); Brain 7039 et 10730 (SRGH); E. Cecil 219 (K); Chase 1885 (SRGH) et 5934 (K; SRGH); S. Davies s. n. (BM); Eyles 8770 (K; SRGH); Fries, Norlindh & Weimarck 2140a et 4005 (LD) et 2460 (K; LD; M); Gardner 47 (K); Gilliland Q919 (BM; K), 1176 (BM) et Q1195 (K); Goldsmith 5/75 (K); Hislop Z.247 et Z.260 (K); Hopkins s. n. (SRGH, 7497); Jacobsen 1517 et 1551 (PRE); King in Eyles 5228 (K); Leach 9671 (SRGH); Loveridge 550 (K; M); O. B. Miller 2005 et 2163 (K; LISC; SRGH), 4050 (K; LISC), 5749 (K) et 7674 (LISC); Mundy 2130 (K); Norrgrann 380 (K; SRGH); Nyariri 629 (S); Obermeyer 2238 (PRE); Rand 513 (BM); Rattray 1103 (SRGH); Rutherford-Smith 376 (BR; SRGH); Swynnerton 258 et 474 (BM; K); Teague 186 (K); Thomson 689 (SRGH); Walters 2427 (K); West 2286 (SRGH); Wild 2069 (K; SRGH); Wild & Simon 6781 (BR; K; SRGH); Young 882 (SRGH); M. E. & N. N. Young 943 (BM). **Malawi:** Banda 293 (BM; K; SRGH); Benson 201 (E; K) et 561 (K; PRE); Buchanan 57 (BM), 136 (BM; BR; COI; E), 245 (E; K), 765 (BM; E; FHO; US) et 1381 (BM; K; US); Buchanan in Wood 6937 (US) et 7011 (K; PRE); Goodwin 29 (BM); Jackson 61 et 672 (K) et 2301 (K; SRGH); Pawek 8174 (K; SRGH) et 12219 et 12312 (K); Phillips 658 (K); Salubeni 150 (SRGH); Whyte s. n. (K, Mt. Maloso) et s. n. (K, Mt. Zomba). **Mozambique:** Brummitt 8606 (K); Correia 398 (LISC); A. Peter 51166 (B). **Kénya:** Maes-Geesteranus 4786 (COI).

<sup>19</sup> En ce qui concerne l'identité du type du *L. wilmsii* var. *villosa*, voir ce que nous affirmons pag. 250 de cet article.



7. Identification de *Lippia schliebenii* Moldenke, *L. kituiensis* Vatke, *L. ukambensis* Vatke et de *Lantana scabrifolia* Moldenke.

a. *Lippia schliebenii* Moldenke

Ce taxon a été basé sur le spécimen *Schlieben* 5596 (BR), récolté à 80 km à l'ouest de Lindi (Tanzanie). MOLDENKE, à la date de sa publication (in *Phytologia* 2: 316-317, 1947), lui référait seulement ce numéro, qui est donc son holotype. Plus tard (in *Phytologia* 12: 482-484, 1966), l'auteur complète la description, en affirmant que la couleur de la corolle peut être blanche (comme il le disait dans la description originale) ou «whitish-yellow to yellowish-white, bluish, or rose-color», et que celle du fruit, non mentionnée auparavant, était «lilac». De plus, à cette date, il référait à l'espèce beaucoup de spécimens non seulement de la Tanzanie, mais aussi du Kenya et un du Zaïre (*Quarré* 3448). Le fait que DALE & GREENWAY (Kenya Trees and Shrubs: 588, 1961) considèrent *L. schliebenii* ainsi que *L. kituiensis* Vatke comme des synonymes de *L. ukambensis* Vatke, nous a porté à étudier ces trois taxa, d'autant plus que, par les couleurs des corolles et des fruits mentionnées dans les étiquettes de certains spécimens, il nous semblait que ceux-ci ne pouvaient pas appartenir au genre *Lippia*, mais possiblement à *Lantana*.

L'étude du type de *Lippia schliebenii* nous a montré que, par le calice non bilobé, mais presque tronqué au sommet, par la corolle à tube relativement allongé et surtout par les fruits drupacés, non séparés en deux méricarpes à la maturation, l'espèce ne peut pas être incluse dans le genre *Lippia*, mais qu'elle appartient en effet au genre *Lantana*. D'ailleurs, l'échantillon type avait été déterminé sur l'étiquette originale comme *Lantana petitiana* A. Rich. WILCZEC (in *sheda*, 1953) l'avait déjà attribué à un *Lantana*, en ayant signalé les caractères distinctifs du calice et des fruits que nous avons référés plus haut. Quand nous étudierons le genre *Lantana* nous reprendrons ce cas, dans le but de savoir à quelle espèce de ce genre le type de *Lippia schliebenii* appartient. Quant à *Quarré* 3448 (BR), il est aussi un *Lantana*, possiblement une forme de *L. trifolia* L. Par contre, *Dummer* 5142, *Fries & Fries* 159, *Graham* 2141, *Mearns* 1838, *Napier* 2486 et *Piemeisel & Kephart* du Kenya, et *Greenway* 3116 et *Schlieben* 4548 de la Tanzanie, tous aussi référés par MOLDENKE (op. cit.: 483-484, 1966)

au *L. schliebenii* appartiennent au *Lippia kituiensis* Vatke (= *L. ukambensis* auct.). Il est probable que les autres échantillons de la Tanzanie, attribués aussi au *L. schliebenii* par MOLDENKE (loc. cit.) et que nous n'avons pas vus, soient la même espèce de VATKE ci-dessus mentionnée.

b. *Lippia kituiensis* Vatke et *Lippia ukambensis* Vatke

Ces deux taxa ont été décrits par VATKE dans *Linnaea* (43: 528, 1882), le *L. kituiensis* basé sur le spécimen *Hildebrandt* 2738 et le *L. ukambensis* sur *Hildebrandt* 2739, les deux récoltés à Kitui, Ukamba, dans le Kénya. Par le fait qu'aucun des échantillons ne possédait de fruits, VATKE considérait ses deux espèces comme douteuses. Plus tard, BAKER (in *Fl. Trop. Afr.* 5: 276-277, 1900) a placé le *L. kituiensis* dans la synonymie de *Lantana salvifolia* Jacq., taxon où il englobait quelques espèces différentes, tandis que le *Lippia ukambensis* était maintenu dans le genre *Lippia* par le même auteur (op. cit.: 281). BRENAN (*Check-List For. Trees and Shrubs Brit. Empire*, n° 5, Tanganyika Territ., 2: 640, 1949) cite le *L. ukambensis* (sans synonymes) pour la Tanzanie et DALE & GREENWAY (*Kenya Trees and Shrubs*: 588, 1961) pour le Kénya, ces deux derniers auteurs en lui donnant comme des synonymes le *Lippia kituiensis* et le *L. schliebenii* Moldenke. MOLDENKE (in *Phytologia* 12: 237, 1965; op. cit. 39: 106, 1974) maintient le *Lippia kituiensis* comme une espèce autonome, en lui attribuant (1965), outre le type, la récolte *Quarré* 2906 du Zaïre et en référant plus tard (in *Phytologia* 40: 80, 1978) l'interprétation que DALE & GREENWAY avaient donnée à ce taxon, interprétation qu'il n'accepte pas.

D'autre part, le *L. ukambensis* est, aussi pour MOLDENKE (op. cit. 40: 79-80, 1978), une bonne espèce de *Lippia* pour laquelle il rejette l'opinion de DALE & GREENWAY d'y inclure non seulement le *L. kituiensis* mais aussi le *L. schliebenii*.

La confrontation entre les descriptions originales des deux espèces de VATKE nous a permis de constater que cet auteur distinguait *L. kituiensis* de *L. ukambensis* par plusieurs caractères, quelqueuns très importants, lesquels nous avons rassemblés dans le Tableau I.

TABLEAU I

<i>Lippia kituiensis</i> Vatke (type Hildebrandt 2738)	<i>Lippia ukambensis</i> Vatke (type Hildebrandt 2739)
«Ramis hispidis-scaberulis...	«Ramis hispidis superne villosis demum glabratis...
foliis... crenulatis supra demum glabratis rugulosis scaberulis, subtus ubique, secus nervos venasque, dense hispidis...	foliis... supremis subsessilibus crenatis utrinque hispidis.
capitulis subglobosis axillaribus binis...	capitulis breviter pedunculatis solitariis subglobosis demum oblongis...
bracteis oblongo-linearibus...	bracteis oblongis acuminatis...
involucro ( <i>bractea axillanti</i> ) corollae tubum hispidum superne ampliatum subaequante.	involucro ( <i>bractea axillanti</i> ) corollae tubum hispidum superne ampliatum superant.
...fl. lacteis...	... fl. lilacinis.
Folia: petioli ad 1 cm longi. Lamina ad 5 cm longa, ad 2 cm lata, in folio unico non plane conservato ad 4 cm lata.	Folia: petioli c. 3 mm manifesti. Lamina ad 5 cm longa, ad 3 cm lata.
Pedunculi ad 2,5 cm longi.	Pedunculi ad 7 mm longi.
Corolla c. 5 mm longa, c. 4 mm lata.	Capitula per anthesin ad 1,2 cm longa.

De cette confrontation, on constate que les principaux caractères qui séparent les deux taxa sont les suivants: longueur du pétiole, lequel est à-peu-près 3 fois plus long chez le *L. kituiensis* que chez le *L. ukambensis*, les feuilles supérieures de celui-ci étant presque sessiles; marge des feuilles à crénelures plus petites chez le *L. kituiensis*; longueur des pédoncules, lesquels sont c. 3,5 fois plus longs chez le *L. kituiensis* que chez le *L. ukambensis*; nombre d'épis par aisselle (2 chez le *L. kituiensis*, 1 chez le *L. ukambensis*); longueur des bractées relativement à la longueur du tube de la corolle (relativement plus courtes chez le *L. kituiensis* que chez le *L. ukambensis*); couleur des corolles (blanche chez le *L. kituiensis*, lilas chez le *L. ukambensis*).

Comme, dans l'herbier de Kew, il y a un grand nombre d'échantillons du Kénya et de la Tanzanie déterminés comme *L. ukambensis*, dont un cité par BRENAN (loc. cit.), nous avons entrepris leur étude et nous sommes arrivée à la conclusion que, d'après leurs caractères [feuilles pétiolées, épis par 2 (ou 1 ou 3) dans chaque aisselle sur de longs pédoncules, bractées oblongues, corolles blanches]<sup>20</sup>, ils s'accordent avec la description de *L. kituiensis* et non avec celle de *L. ukambensis*. Donc, le doute se nous est posé si BRENAN, DALE & GREENWAY et les détermineurs du matériel de K postérieurs à 1961 ne se seraient-ils pas trompés en ce qui concerne l'interprétation de *L. ukambensis*. Pour résoudre ce cas, nous avons examiné les isotypes de *L. kituiensis*, existant à K (Tab. I), M (Tab. II) et W<sup>21</sup>, et de *L. ukambensis* existant à K, puisque les holotypes de ces deux espèces, dans B, avaient été détruits pendant la dernière Grande Guerre. Soit l'isotype de M, soit celui de W de *L. kituiensis* portent des étiquettes identiques, en différant seulement par l'écriture du nom de l'espèce. Il s'agit possiblement d'étiquettes du même modèle de celles imprimés pour tous les spécimens récoltés par HILDEBRANDT, car le nom de ce collecteur (Leg. J. M. HILDEBRANDT) y figure sur l'angle inférieur gauche en caractères imprimés. Les données relatives au spécimen sont manuscrites: 2738 (nombre de la récolte); *Kitui in Ukamba, fl. lact.* (place de récolte et indication de la couleur de la corolle); *Mai 77* (date de récolte). La détermination (*Lippia kituiensis* Vatke) dans l'échantillon de M est écrite dans une écriture différente de celle des données, ce qui montre qu'elle a été écrite par une autre personne; la détermination de celui de W est aussi manuscrite dans une écriture différente non seulement des données, mais encore de celle de la détermination de celui de M; tous deux ont été envoyés (de B?) par C. RENSCH. L'observation de ces deux échantillons nous a permis de constater qu'ils s'accordent

<sup>20</sup> Des nombreux échantillons de K examinés et d'après la couleur des corolles indiquée dans les étiquettes, aucun ne les possèdent roses, lilas ou purpurines, mais blanches, blanchâtres, blanches-verdâtres ou jaunâtres.

<sup>21</sup> Un autre isotype de cette espèce (avec une étiquette identique à celles des isotypes qui étaient séparés dans des couvertures spéciales) se trouvait aussi à W, où il était inclus parmi les échantillons de *Lantana rugosa* Thunb. (*L. salvifolia* Jacq.), sa détermination comme *Lantana salvifolia* Jacq. en ayant été écrite probablement après la publication de l'étude de BAKER des Verbénacées dans *Flora of Tropical Africa* (vol. 5, 1900).

soit avec la description de *L. kituiensis* (il n'y a pas eu, donc, d'erreur lors de la mise sur le papier de montage), soit avec les spécimens récents déterminés dans K comme *L. ukambensis*. Leur concordance avec quelques exemplaires de cet herbier est frappante, particulièrement en ce qui concerne la longueur de quelques pédoncules, laquelle, cependant, chez le spécimen de M, va jusqu'à 5 cm.

L'analyse de l'échantillon de K (cf. Tab. I), déterminé comme *L. kituiensis* et se trouvant dans une couverture de type, est plus compliquée. Cet échantillon, que nous désignerons par A, se compose de deux rameaux, dont un, placé plus à gauche (a), séparé de l'autre (b) par un trait à crayon sur le papier de montage. L'exemplaire possède une étiquette identique à celles des isotypes de M et W en ce qui concerne l'écriture des données, du nom du collecteur, etc., mais sans aucune détermination. Sur cette étiquette, on trouve manuscrite, dans une écriture et une encre différentes de celles employées pour les autres données, l'indication «Recd. 6/78», ce qui indique que l'exemplaire a été reçu à K (?) en Juin de 1878, c'est-à-dire, un an après sa récolte (1877) et quelques années avant la publication de *L. kituiensis* Vatke (1882), ce qui explique qu'il n'ait pas été déterminé à B avant son envoi à K. Sous cette étiquette existe une autre avec la détermination manuscrite «*Lippia? kituiensis* Vatke. Linnaea 43, 528» et le nom du déterminateur, en caractères imprimés «named by Mr. W. VATKE». Sur le papier de montage et écrit à crayon, possiblement par BAKER, on lit «cf. *Lantana salviaefolia* Jacq.», détermination qui surmonte la petite étiquette de FLORA OF TROPICAL AFRICA. Or, le rameau (a), par le type de l'indument, par la marge des feuilles à crénelures plus petites que celles du rameau (b), par les épis sur des pédoncules assez longs, disposés par deux dans chaque aisselle d'un noeud, par les bractées oblongues ou (les internes) oblongues-linéaires et par les corolles qui semblent n'avoir pas été colorées sur le frais, s'accorde avec les isotypes de *L. kituiensis* de M et W et avec les caractères que VATKE avait attribués à cette espèce. Au contraire, le rameau (b), principalement à cause de toutes les inflorescences solitaires sur des pédoncules plus courts que ceux du rameau (a), par les bractées acuminées et par les corolles purpurines (les corolles deviennent plus foncées par séchage), n'est pas en accord avec la description de *L. kituiensis*, mais avec celle de *L. ukambensis*. Cela signifie que le spécimen A de K, nommé comme

*L. kituiensis* (cf. Tab. I), englobe deux espèces, le rameau (a) appartenant à cette espèce et le rameau (b) au *L. ukambensis*. Cette constatation est confirmée par l'analyse d'un échantillon de K y déterminé comme *L. ukambensis* (dans une autre couverture de type). Ce spécimen est constitué par des feuilles, la plupart déjà fragmentées, et un épis, le tout inclus dans un sachet, sous lequel on trouve une étiquette «Ex Museo botanico Berolinense», avec les données (manuscrites dans une écriture et une encre différentes de celles des isotypes de *L. kituiensis* de K, M et W): «2739. *Lippia ukambensis* Vatke/Ukamba: Kitui/fl. lilacini/Mai 1877 — leg. J. M. Hildebrandt». Sur le papier de montage, il y a l'indication (manuscrite, à l'encre): «From the type specimen./Received from Berlin 20/10/00»<sup>22</sup>.

L'étude des éléments qui forment l'isotype de *L. ukambensis* de K nous a montré que leurs caractères s'accordent avec ceux du rameau (b) de A et, comme ce dernier, avec ce que VATKE a décrit comme *L. ukambensis*.

Étant donné que la famille des Verbénacées a été publiée dans Flora of Tropical Africa (vol. 5) en Juin de 1900 (cf. revers du frontispice), BAKER, l'auteur de son étude pour cet ouvrage, n'a pas pu étudier à temps l'isotype de *L. ukambensis*, reçu à K en Octobre de la même année, sa citation de cette espèce (tom. cit.: 281) en étant, donc, basée exclusivement sur la description de VATKE<sup>23</sup>. De plus, BAKER réfère à cette espèce seulement son type (*Hildebrandt* 2739).

<sup>22</sup> Ces données doivent avoir été copiées de l'étiquette de l'holotype de *L. ukambensis* existant alors à B, laquelle était probablement du même modèle que celles des isotypes de *L. kituiensis*. La pauvreté du double envoyé à K se justifie possiblement par l'inexistence alors à B de quelque autre échantillon complet de *Vatke* 2739, les fragments envoyés à K en ayant été retirés de l'holotype, comme le réfère la note écrite sur le papier de montage. Cela expliquerait aussi qu'il n'y ait pas d'isotypes de *L. ukambensis* dans d'autres herbiers.

<sup>23</sup> Il est curieux de remarquer que BAKER, en ayant traduit dans l'anglais, presque mot à mot, la description latine de VATKE de *L. ukambensis*, a omis la couleur de la corolle référée par son auteur (lilacina)! En effet, les espèces africaines de *Lippia* possèdent généralement des corolles blanches ou blanchâtres, la couleur rose, lilas ou purpurine étant, par contre, fréquente chez les espèces de *Lantana*. La mention de la couleur des corolles de *Lippia ukambensis* pourrait susciter des doutes au lecteur sur la place du taxon dans le genre *Lippia*.

Comme le rameau (*a*) de *A*, qui est un isotype de *L. kituiensis*, correspond à ce que les auteurs récents anglais et MOLDENKE (loc. cit., 1978) ont pris comme *L. ukambensis*, on arrive à la conclusion que l'espèce à corolles blanches, disposées en épis sur de longs pédoncules groupés par 2 (ou 3) dans chaque aisselle, et à bractées oblongues ou oblongues-linéaires, assez commune dans le Kénya et la Tanzanie, est le *L. kituiensis* et non le *L. ukambensis*.

Un autre caractère, outre ceux enregistrés dans le Tableau I, qui permet de distinguer *L. kituiensis* de *L. ukambensis*, est la forme et la position des anthères dans le tube de la corolle: chez *L. kituiensis* [isotypes de M et de W; rameau (*a*) de *A* de K], les anthères sont arrondies et situées près de la gorge du tube de la corolle; chez *L. ukambensis* [isotype de K; rameau (*b*) de l'échantillon *A* de K], les anthères sont oblongues et se trouvent à-peu-près au milieu du tube de la corolle. Chez les exemplaires des récoltes récentes attribuées dans K au *L. ukambensis*, les anthères sont identiques à celles de *L. kituiensis* (isotypes), ce qui vient en appui de notre point de vue, c'est-à-dire, qu'ils appartiennent à cette dernière espèce et non au *L. ukambensis*.

La confusion a commencé probablement avec BAKER (tom. cit.: 276), qui a placé le *L. kituiensis* dans la synonymie de *Lantana salvifolia* Jacq., espèce à laquelle il attribuait des corolles «lilac or pink» comme est effectivement le cas pour le vrai *L. rugosa* Thunb. (*L. salvifolia* Jacq.), quand il lui suffisait de lire la description de VATKE pour voir que les corolles de *L. kituiensis* sont blanches. Probablement BAKER a examiné à peine le rameau (*b*) de *A*, lequel, effectivement, possède les corolles purpurines, sans vérifier s'il s'accordait avec la description de cette espèce-là. Et, comme l'étiquette de VATKE du spécimen *A* portait la détermination *L. kituiensis*, BAKER a considéré le dit rameau (*b*) (*L. ukambensis*) comme appartenant au *L. kituiensis*, qu'il a mis dans *Lantana salvifolia* Jacq.

<sup>24</sup> On ne peut pas savoir si les deux rameaux de *A* ont été envoyés de B déjà mélangés et portant une seule étiquette (celle du numéro Hildebrandt 2738), ou si chacun en possédait une, le rameau (*a*) celle de Hildebrandt 2738, le rameau (*b*) celle de Hildebrandt 2739. Cette dernière aurait été alors perdue au cours du montage, ou inutilisée délibérément, puisque les deux rameaux, étant apparemment assez semblables et les deux étiquettes ne différant, à la date de leur réception à K, que du numéro, elle aurait été considérée

Quant au vrai *L. ukambensis* à corolles purpurines (lilas sur le frais), dont sont connus le rameau (*b*) de l'échantillon A (K) et l'isotype (K), il est possible qu'il soit un *Lantana*, mais en l'absence de fruits et par le fait que les éléments ci-dessus mentionnés ne permettent pas une étude convenable, il est difficile de savoir à quelle espèce il appartient. Toutefois, nous tâcherons de faire son identification lors de notre étude du genre *Lantana*, quand notre connaissance des espèces de ce genre sera plus complète.

### c. *Lantana scabrifolia* Moldenke

Ce taxon a été décrit par MOLDENKE (in *Phytologia* 12: 422 et 423, 1940), basé sur un échantillon du Kenya (*Mearns* 267, NY), récolté près de Nairobi. Plus tard (*Fifth Summ. Verbenaceae*: 237, 241 et 250, 1971), l'auteur cite l'espèce aussi pour la Tanzanie et le Malawi. L'étude d'un isotype (US) de *L. scabrifolia* nous a permis de conclure qu'il ne s'agit pas d'un *Lantana*, mais du *Lippia kituiensis* Vatke. Outre le type, nous avons aussi examiné d'autres récoltes de MEARNs du Kenya, dont trois des alentours de Nairobi, déterminées également comme *Lantana scabrifolia* par MOLDENKE (in sched., 1947 ou 1965), lesquelles appartiennent encore au *Lippia kituiensis*. En ce qui concerne l'existence de *L. kituiensis* dans le Malawi, nous ne pouvons pas la confirmer, ne sachant pas, de plus, à quel taxon se référerait MOLDENKE en citant son espèce pour ce pays. Toutefois, étant donné que ce botaniste situe Kyimbila au Malawi, quand cette localité appartient à la Tanzanie (cf. note 3 de cet article, pag. 249) et qu'il y a dans quelques herbiers (BM; P; PRE; s; z) des échantillons de *Stolz* 686 récoltés à Kyimbila, dont celui de s déterminé par MOLDENKE comme *Lantana scabrifolia*, mais qu'appartient au *Lippia plicata* Bak. (ainsi que ceux du même numéro des autres herbiers), il est bien possible que la citation de *Lantana scabrifolia* pour le Malawi ait été basée sur le dit spécimen. D'autre part, d'échantillon *Whyte* s. n., cueilli dans le Nyika Plateau,

superflue. Il est possible que le trait à crayon qui sépare (*a*) de (*b*) dans A ait été fait non par BAKER, mais par quelque autre chercheur postérieur qui ait reconnu les différences entre les deux rameaux, lequel sans consulter les descriptions originales, ait pris le rameau *a* comme *L. ukambensis* et le *b* comme *L. kituiensis*.



(VII-1896), référé par MOLDENKE (in *Phytologia* 13: 175, 1966) au *Lippia wilmsii* var. *scaberrima* appartient au *L. kituiensis*. Comme le Nyika Plateau s'étend par la Zambie et le Malawi, il est difficile de savoir où il a été récolté, le plus probable étant dans la Tanzanie dans la région contactant avec le Malawi, puisque nous n'avons vu aucun échantillon de *L. kituiensis* soit du Malawi, soit de la Zambie. Relativement à la Tanzanie, nous croyons que la référence de MOLDENKE (1971) de *Lantana scabrifolia* pour ce pays se rapporte au *Lippia kituiensis*, espèce dont nous avons vu beaucoup d'exemplaires tanzanais.

*Lantana scabrifolia* Moldenke doit donc être ajouté à la synonymie de *Lippia kituiensis* Vatke.

La synonymie de *Lippia kituiensis* est la suivante:

***Lippia kituiensis*** Vatke in *Linnaea* 43: 528 (1882). — Moldenke in *Phytologia* 3: 292 (1951); op. cit. 12: 237 (1965) ?excl. specim. zairens. *Quarré* 2906; op. cit. 39: 106 (1974).

*Lippia ukambensis* sensu auct. pro max. parte, non Vatke (1882).

*Lantana salvifolia* sensu Bak. in *Fl. Trop. Afr.* 5: 276-277 (1900) quoad syn. *Lippia kituiensis* et specim. *Hildebrandt* 2738 et *Thomson* s. n., non Jacq. (1798).

*Lantana viburnoides* sensu Bak., op. cit.: 276 (1900) quoad specim. tanzanien. *Volkens* 265, non (Forsk.) Vahl (1790).

*Lippia asperifolia* sensu Bak. op. cit.: 280 (1900) quoad saltem *Scott-Elliot* 6331 et *Holst* 8893, non Marthe (1801).

*Lantana scabrifolia* Moldenke in *Phytologia* 12: 422 (1940); *Fifth Summ. Verbenaceae* 1: 237, 241 et 250 (1971).

*Lippia schliebenii* sensu Moldenke in *Phytologia* 12: 482-484 (1966) quoad saltem *Dummer* 5142, *Fries & Fries* 159, *Graham* 2141, *Greenway* 3116, *Mearns* 1838, *Napier* 2486, *Piemeisel & Kephart* 186 et *Schlieben* 4548, non Moldenke (1947).

*Lippia wilmsii* var. *scaberrima* sensu Moldenke in *Phytologia* 13: 175 (1966) quoad specim. *Whyte* s. n. (in Nyika Plateau collectum), non *L. africana* var. *scaberrima* Moldenke (1948).

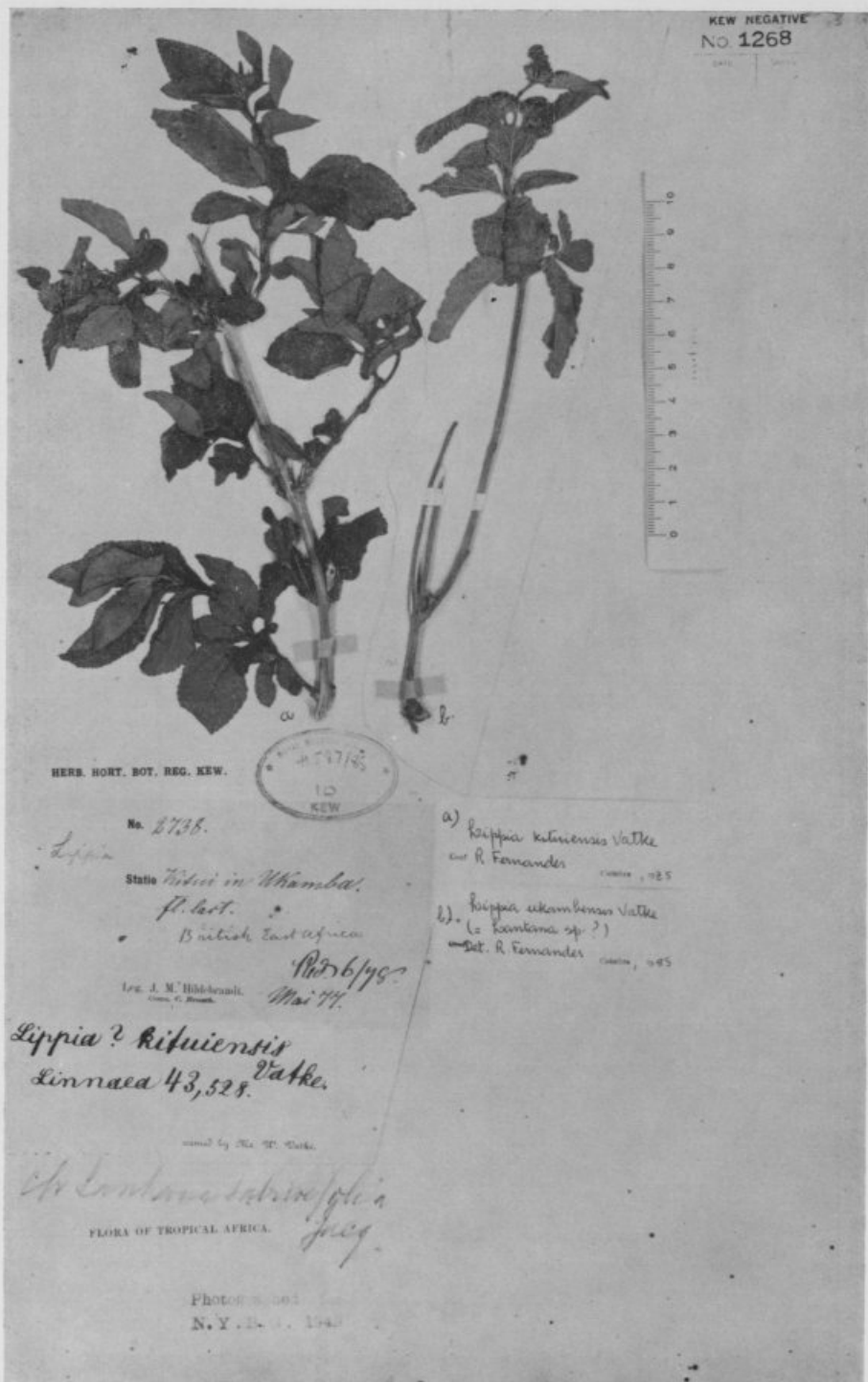
Nous avons vu les échantillons suivants de *L. kituiensis*, outre les isotypes de M, K et W (dont l'échantillon de M — Tab. II — est choisi par nous comme le lectotypus):

**Kénya:** *A. H. I. T. I.* 11 (K); *Alluaud* 146 (P); *Bally* 1041, 1568, 2428, 5102, 5319, 5445, 6253, 7677, 7829 et 8469 (K); *Bally & A. R. Smith* B14304 (K); *Beckley* 2706 (K); *Dowson* 348 (K); *Dummer* 5142 (K; US); *R. B. & A. J. Faden & A. N. Evans* 607 (K); *Fries & Fries* 159 (K); *Glover, Gwynne*

& Samuel 675, 824 et 1505 (K); Glover, Gwynne, Samuel & Tucker 2477 (K); Glover & Samuel 2857, 3109 et 3138\* (K); Graham 2141 (K); Hancock 26 et 32 (K); Kibue 130 (K); Kokwova & Matheys (?) 3452 (K); Lawton 1634 (K); Linsen & Giesen 83 (US); Mckay 51 (K); Mearns 60, 223, 251, 267, 542, 645, 801, 822 et 1838 (US); Mwangangi 707, 883, 1705 et 2316 (K); Mwangangi & Gillett 1974 (K); Napier 2486; Napper 1568 (K); Perdue & Kibuwa 8033 et 9512 (K); Piemeisel & Kephart 186 (US); Scott-Eliot 6331 (K); Taiti 2155 (K); Thomson s. n. [in Kapte Plateau lectum (K)]; Trapnell 2134 (K); Van Someren s. n. (K); Verdcourt 1401 (K); Whyte s. n. (K). Tanzanie: Bally 4230 (K); Buchald 232 (K); Davies 830 (K); Disney 1 et 2 (K); Drummond & Hemsley 2245 (K); Faulkner 4630 (K); Geilinger 1371 et 1551 (K); Greenway 3116, 4420, 6580, 9915 et 10177 (K); Haarer 302, 699 et s. n. (K); Hocombe 1456 (K); Holst 8893 (K; M); Koritschoner 952 (K); Lamprey 510 (K); Leippert 5601 (K); Lind 2268 (K); Mbailwa 69 (K); Milne-Redhead & Taylor 11289 (K); Moreau & Moreau 63 (K); Mshana 115 et 191 (K); Newbould 5779 (K); Ngoundai 294 (K); Omari 14 (K); Peterson 50 (K); Raynal 19074 et 19124 (K); Richards 20787 (K); Ruffo 1501 (K); Sangiwa 3 (K); Schlieben 4548 (BM); Semsei 2869 (K) et 3865\* (COI); Shabani 341\* et 432\* (K); Tanner 849 et 1862 (K); Volkens 265 (BM; K); J. B. Wallace 1024A\* (K); Welch 501 (K); Wenes (?) 904 (K); Willan 246 et 637 (K). ?Malawi: Whyte s. n. (K)<sup>25</sup>.

<sup>25</sup> Voir ce que nous disons plus haut sur cet échantillon (pag. 270-271). Les échantillons marqués d'un astérisque étaient déterminés dans K comme *Lantana trifolia* L.

*Alluud* 146 (P) se trouvait déterminé comme *Lantana rugosa* var. *ternifolia* Bak., variété que nous n'avons pas trouvée décrite, et Linsen & Giesen 83 (US), déterminé sur l'étiquette originale comme *Lantana viburnoides*, fut redéterminé (1981) par MOLDENKE comme *Lantana rugosa*. Pour la détermination de quelques autres échantillons, voir la synonymie. Holst 8893 (Tab. III), déterminé sur l'étiquette comme *Lippia asperifolia*, fut redéterminé par MOLDENKE comme *L. schliebenii*. On voit, donc, combien d'interprétations diverses ont été données à *Lippia kituiensis* Vatke.



A gauche, spécimen Hildebrandt 2738 (K), isotype de *Lippia kituiensis* Vatke, rameau a du texte. A droite, rameau de *Lippia ukambensis* Vatke (= *Lantana* sp.), rameau b du texte.



*Lippia kituensis* Vatke  
 Col. R. Ferrández Cuba 1985  
 No. 2738  
 Hilb. 1973  
 fl. lat.

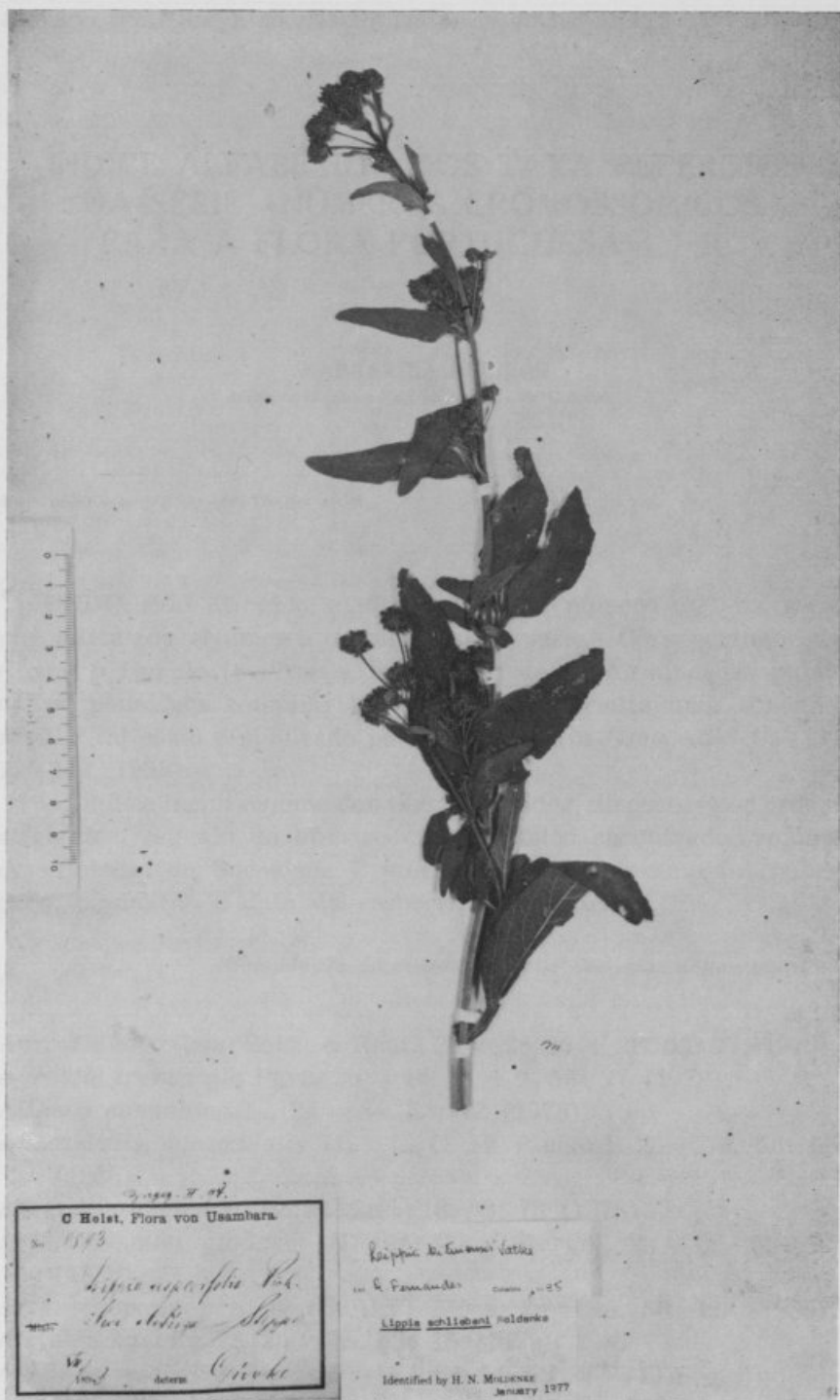
IS-77761  
*Lippia kituensis* Vatke

L. J. M. Hilb. 1973

Hilb. 1973

Verified by H. N. Moldenke  
 September 1973

Lectotypus de *Lippia kituensis* Vatke [specimen Hilb. 2738 (M)].



*Lippia kituiensis* Vatke. Spécimen *Holst* 8893 (M), cité par *BAKER* dans *L. asperifolia* Marthe [= *L. javanica* (Burm. f.) Spreng] et redéterminé par *MOLDENKE* comme *Lippia schliebenii*.

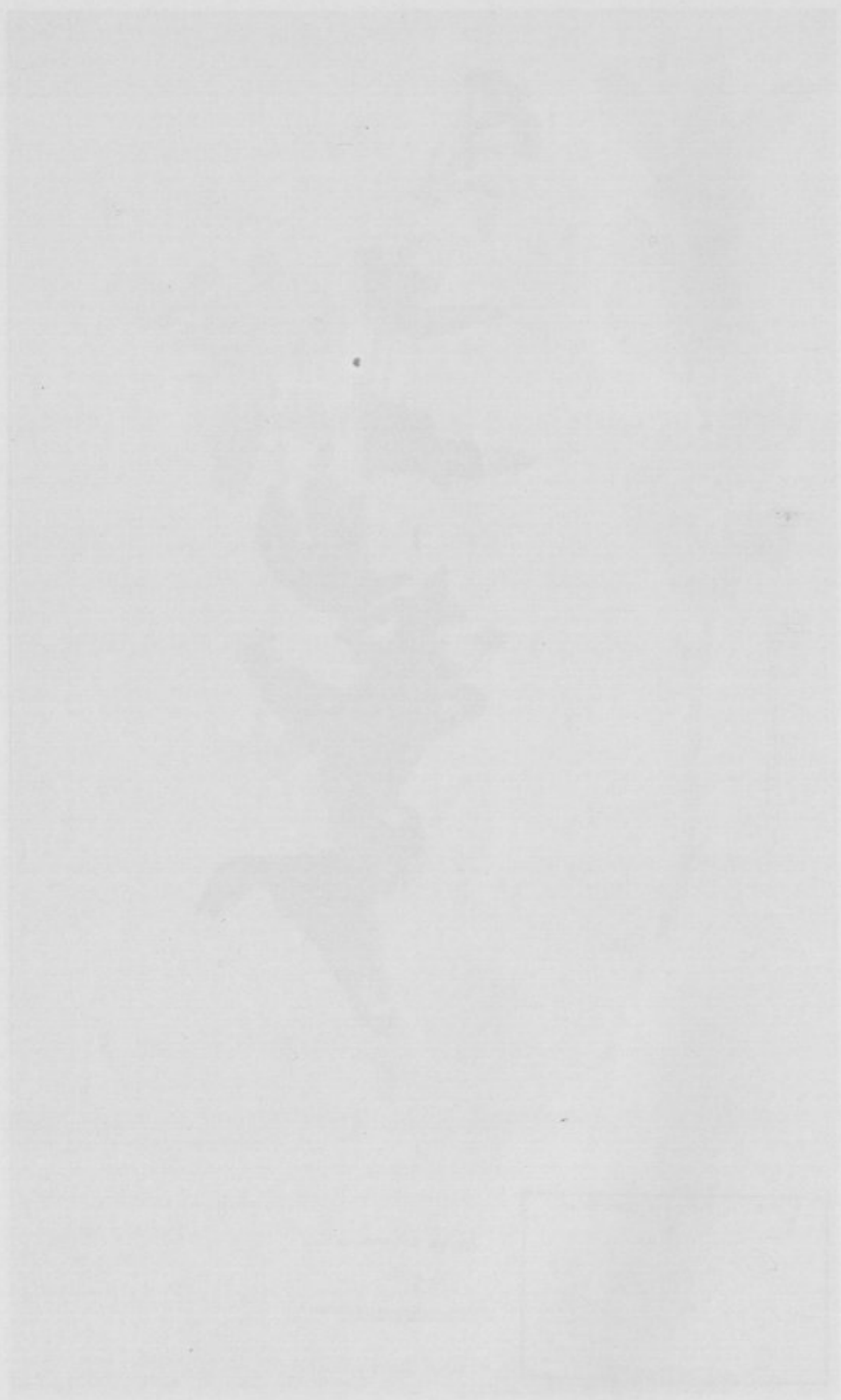


Figure 1. Map of the study area showing the location of the study sites (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z) and the surrounding area. The map is oriented with North at the top. The study sites are marked with letters A through Z. The surrounding area is shaded in light gray. The map is enclosed in a rectangular border.

## ÍNDICE ALFABÉTICO DOS TAXA REFERIDOS NA SÉRIE «NÚMEROS CROMOSSÓMICOS PARA A FLORA PORTUGUESA». 1-103

por

MARGARIDA QUEIRÓS

Instituto Botânico da Universidade de Coimbra

Recebido em 17 de Julho de 1986.

TENDO sido atingido e ultrapassado o número 100 da série intitulada «Números cromossómicos para a flora portuguesa» e com o fim de facilitar a localização das determinações publicadas, pensámos compilar um índice que permita uma consulta rápida, tal como o publicado por J. PASTOR (in *Lagasalia* 12 (1): 135-142, 1983).

O índice inclui o nome dos taxa estudados, dispostos por ordem alfabética, seguido do número cromossómico encontrado, volume do «Boletim da Sociedade Broteriana» onde o mesmo foi publicado, paginação e data da respectiva publicação.

(Compilação da autora a partir das suas determinações)

*Agrostis castellana* Boiss. & Reut., 2n = 28, 28 + 2B. 53: 27 (1979).

*Agrostis truncatula* Parl., 2n = 14, 14 + 1. 53: 27 (1979).

*Althaea cannabina* L., 2n = 84. 52: 72 (1978).

*Anacamptis pyramidalis* (L.) L. C. M. Richard, 2n = 72. 56: 95 (1983).

*Armeria welwitschii* Boiss., 2n = 18. 52: 73 (1978).

*Arthrocnemum glaucum* (Delile) Ung.-Sternb., 2n = 36. 58: 91 (1985).

*Arthrocnemum perenne* (Miller) Moss, 2n = 18. 58: 90 (1985).

*Atriplex hastata* L., 2n = 18. 53: 15 (1979).

*Avellinia michellii* (Savi) Parl., 2n = 14. 52: 77 (1978).

- Brassica barrelieri* (L.) Janka subsp. *barrelieri*,  $2n = 20$ . 53: 17 (1979).
- Bromus sterilis* L.,  $2n = 28$ . 54: 54 (1980).
- Calystegia sepium* (L.) R. Br.,  $2n = 22$ . 53: 22 (1979).
- Capsella bursa-pastoris* (L.) Medicus,  $2n = 32$ . 56: 88 (1983).
- Carex arenaria* L.,  $2n = 64$ . 56: 94 (1983).
- Carex binervis* Sm.,  $2n = 74$ . 54: 58 (1980).
- Carex distachya* Desf.,  $2n = 74$ . 56: 92 (1983).
- Carex extensa* Good.,  $2n = 60$ . 54: 59 (1980).
- Carex hispida* Willd.,  $2n = 38$ . 56: 94 (1983).
- Carex ovalis* Good.,  $2n = 64$ . 54: 57 (1980).
- Carex paniculata* L. subsp. *lusitanica* (Schkuhr) Maire,  $2n = 64$ . 56: 93 (1983).
- Carex remota* L.,  $2n = 62$ . 54: 56 (1980).
- Chenopodium opulifolium* Schrader ex Koch & Ziz,  $2n = 54$ . 53: 15 (1979).
- Conium maculatum* L.,  $2n = 22$ . 58: 91 (1985).
- Convolvulus althaeoides* L. subsp. *althaeoides*,  $2n = 40$ . 58: 93 (1985).
- Convolvulus arvensis* L.,  $2n = 48$ . 52: 74 (1978).
- Convolvulus arvensis* L.,  $2n = 48$ . 58: 92 (1985).
- Convolvulus meonanthus* Hoffmanns. & Link,  $2n = 26$ . 53: 24 (1979).
- Convolvulus tricolor* L.,  $2n = 20$ . 52: 73 (1978).
- Conyza*  $\times$  *flahaultiana* (Thell.) Sennen,  $2n = 54$ . 52: 75 (1978).
- Cotula coronopifolia* L.,  $2n = 20$ . 56: 90 (1983).
- Crocus serotinus* Salisb. subsp. *clusii* (Gay) Mathew,  $2n = 22$ . 54: 53 (1980).
- Crucianella angustifolia* L.,  $2n = 22$ . 53: 20 (1979).
- Cyperus flavescens* L.,  $2n = 50$ . 56: 92 (1983).
- Daucus carota* L. subsp. *maritimus* (Lam.) Batt.,  $2n = 18$ . 58: 92 (1985).
- Daucus crinitus* Desf.,  $2n = 22$ . 53: 20 (1979).
- Deschampsia stricta* (Gay) Hack.,  $2n = 56$ . 52: 76 (1978).
- Dipcadi serotinum* (L.) Medicus,  $2n = 8, 8 + 1B$ . 56: 91 (1983).
- Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter subsp. *revoluta* (Hoffmanns. & Link) P. Silva & Tutin,  $2n = 18$ . 53: 25 (1979).
- Emex spinosa* (L.) Campd.,  $2n = 20$ . 56: 87 (1983).
- Euphorbia characias* L.,  $2n = 20$ . 53: 19 (1979).
- Euphorbia pubescens* Vahl,  $2n = 14$ . 53: 19 (1979).



- Euphorbia uliginosa* Welw. ex Boiss.,  $2n = 14$ . 54: 49 (1980).  
*Evax pygmaea* (L.) Brot. subsp. *ramosissima* (Mariz) R. Fernan-  
 nandes & Nogueira,  $2n = 26$ . 52: 75 (1978).  
*Fallopia convolvulus* (L.) A. Löve,  $2n = 40$ . 56: 79 (1983).  
*Gladiolus illyricus* Koch subsp. *illyricus*,  $2n = 60$ . 54: 52 (1980).  
*Gladiolus illyricus* Koch subsp. *reuteri* (Boiss.) Coutinho,  $2n = 60$ ,  
 120, 54: 52 (1980).  
*Gladiolus italicus* Mill.,  $2n = 180$ . 53: 25 (1979).  
*Gynandrisis sisyrinchium* (L.) Parl.,  $2n = 24$ . 54: 54 (1980).  
*Halimium halimifolium* (L.) Willk. subsp. *multiflorum* (Salzm.  
 ex Dunal) Maire,  $2n = 18$ . 52: 73 (1978).  
*Hedypnois cretica* (L.) Dum.-Courset,  $2n = 8$ . 54: 52 (1980).  
*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. subsp. *italicum*,  $2n = 28$ .  
 54: 50 (1980).  
*Hypochoeris glabra* L. var. *glabra*,  $2n = 10$ . 54: 51 (1980).  
*Juncus bulbosus* L.,  $2n = 40$ . 53: 26 (1979).  
*Lactuca viminea* (L.) J. & C. Presl,  $2n = 18$ . 56: 91 (1983).  
*Lepidium latifolium* L.,  $2n = 48$ . 53: 16 (1979).  
*Lobularia maritima* (L.) Desv.,  $2n = 24$ . 53: 16 (1979).  
*Lunaria annua* L.,  $2n = 30$ . 52: 70 (1978).  
*Matricaria maritima* L.,  $2n = 18$ . 54: 50 (1980).  
*Mentha rotundifolia* (L.) Hudson,  $2n = 24$ . 58: 93 (1985).  
*Micromeria juliana* (L.) Bentham ex Reichenb.,  $2n = 30$ . 58: 95  
 (1985).  
*Nepeta tuberosa* L. subsp. *tuberosa*,  $2n = 18$ . 58: 96 (1985).  
*Ophrys speculum* Link subsp. *lusitanica* O. & A. Danesch,  $2n = 38$ .  
 56: 98 (1983).  
*Ophrys speculum* Link subsp. *speculum*,  $2n = 36$ . 56: 97 (1983).  
*Orchis italica* Poir.,  $2n = 42$ . 54: 61 (1980).  
*Orchis italica* Poir.,  $2n = 42$ . 58: 96 (1985).  
*Orchis morio* L.,  $2n = 36$ . 54: 59 (1980).  
*Peribalia involucrata* (Cav.) Janka,  $2n = 14$ . 54: 54 (1980).  
*Persicaria hydropiper* (L.) Opiz,  $2n = 20$ . 56: 83 (1983).  
*Persicaria maculata* (Rafin.) S. F. Gray s. lat.,  $2n = 22$ , 44. 56:  
 84 (1983).  
*Phalaris brachystachys* Link,  $2n = 12$ . 54: 56 (1980).  
*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel,  $2n = 54$ . 54: 56 (1980).  
*Polygonum arenastrum* Boreau,  $2n = 40$ . 56: 81 (1983).  
*Polygonum aviculare* L.,  $2n = 60$ . 56: 80 (1983).  
*Polygonum lapathifolium* L.,  $2n = 22$ . 58: 86 (1985).

- Polygonum maritimum* L., 2n = 20. 58: 85 (1985).  
*Polygonum salicifolium* Brouss. ex Willd., 2n = 40. 58: 87 (1985).  
*Rorippa sylvestris* (L.) Besser subsp. *sylvestris*, 2n = 32. 53: 16 (1979).  
*Rubia peregrina* L. var. *peregrina*, 2n = 88. 53: 21 (1979).  
*Rumex conglomeratus* Murray, 2n = 20. 58: 87 (1985).  
*Rumex crispus* L., 2n = 60. 56: 86 (1983).  
*Rumex pulcher* L. subsp. *divaricatus* (L.) Murb., 2n = 20. 58: 90 (1985).  
*Rumex pulcher* L. subsp. *pulcher*, 2n = 20; n = 10. 58: 89 (1985).  
*Scabiosa atropurpurea* L., 2n = 16. 54: 49 (1980).  
*Sedum album* L., 2n = 68. 53: 18 (1979).  
*Sedum album* L., 2n = 68. 54: 48 (1980).  
*Sedum forsteranum* Sm., 2n = 72. 53: 18 (1979).  
*Sedum forsteranum* Sm., 2n = 72. 54: 47 (1980).  
*Sedum rubens* L., 2n = 42. 52: 72 (1978).  
*Sedum rubens* L., 2n = 42. 54: 48 (1980).  
*Sedum sediforme* (Jacq.) Pau, 2n = 32. 52: 71 (1978).  
*Sedum sediforme* (Jacq.) Pau, 2n = 32. 54: 47 (1980).  
*Sedum sediforme* (Jacq.) Pau, 2n = 32. 58: 91 (1985).  
*Sedum tenuifolium* (Sibth. & Sm.) Strobl, 2n = 24. 52: 71 (1978).  
*Senecio pyrenaicus* L., 2n = 40. 52: 76 (1978).  
*Serapias cordigera* L., 2n = 36. 56: 96 (1983).  
*Serapias lingua* L., 2n = 72. 56: 96 (1983).  
*Serapias parviflora* Parl., 2n = 36. 56: 97 (1983).  
*Sinapis alba* L. subsp. *alba*, 2n = 24. 53: 17 (1979).  
*Sisymbrella aspera* (L.) Spach subsp. *boissieri* (Cosson) Heywood, 2n = 16. 52: 70 (1978).  
*Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link, 2n = 30. 58: 94 (1985).  
*Trisetum hispidum* Lange, 2n = 14. 54: 55 (1980).  
*Trisetum paniceum* (Lam.) Pers., 2n = 14. 54: 55 (1980).  
*Umbilicus rupestris* (Salisb.) Dandy, 2n = 48. 53: 17 (1979).

## DETRIMENTAL EFFECTS OF AUTOCLAVING ON THE INHIBITORY CAPACITY OF ABA ON THE *IN VITRO* XYLOGENESIS

by

JOSÉ PISSARRA, ISABEL SANTOS & R. SALEMA

Institute of Botany and Experimental Cytology Centre  
University of Porto

Received August 5, 1986.

### SUMMARY

An established callus tissue derived from *Sedum telephium* L. leaf mesophyll was grown for 15 and 30 days culture periods, on Gamborg's B-5 medium enriched with  $10 \text{ mg.dm}^{-3}$  of benzylaminopurine and  $0.1 \text{ mg.dm}^{-3}$  of naphthalene acetic acid to which  $5 \text{ mg.dm}^{-3}$  of abscisic acid (ABA) was added either before autoclaving or through filter sterilization to an already autoclaved and cooled medium; the same medium without ABA was used as control.

During the first period of growth, both autoclaved and filtered ABA media showed almost the same inhibitory capacity on xylem formation, in comparison to control, and electron microscope study showed no noticeable ultrastructural alterations at the developmental stages examined. However, biochemical determinations revealed some differences, soluble proteins appearing reduced in tissue grown on filtered ABA medium whereas carbohydrates appeared increased. Interestingly enough this same pattern of differences appeared also in material treated during 30 days. In addition to that, this longer treatment led to different values for the inhibitory capacity of ABA on xylogenesis, about 58 % inhibition in calli grown in filtered ABA medium whereas only 20 % inhibition in the case of autoclaved ABA medium. Water contents of calli seem to be little affected by the referred treatments.

The results are discussed and point to the deleterious effect of autoclaving ABA as far as its inhibitory capacity on xylogenesis is concerned.

## INTRODUCTION

CELL differentiation is still one of the less well understood fundamental biological processes, either in animals or plants. Improvements in plant tissue culture techniques prompted research in this field, frequently using differentiation of tracheary elements as a model system for assessing the influence of regulating factors in the process of cytodifferentiation from callus cells to them. Various studies pointed to the importance of auxins, cytokinins and very likeable of other phytohormones, as well as the need of a delicate balance between them and also between various nutrients in the process of xylem-like cells differentiation on callus cultures, to say nothing of other less exploited factors as temperature, light quality and even atmosphere composition (ROBERTS, 1969; TORREY *et al.*, 1971; DALESSANDRO, 1973; MINOCHA & HALPERIN, 1974; PHILLIPS & DODDS, 1977; NOEL *et al.*, 1977; SAVIDGE, 1983a; MINOCHA, 1984).

Generally speaking, formation of tracheary elements is a common feature in callus cultures even using culture media which do not promote organogenesis (maintenance media). As a consequence of this tendency, whenever studies of tracheary cells are intended, culture conditions ought to be set leading to the lowest possible level of xylem-like cells formation. This can be achieved adding abscisic acid (ABA) to the culture medium, since it is known that in the presence of auxin and benzylaminopurine it quite effectively constrains such process (HADDON & NORTHCOTE, 1976; WATSON & HALPERIN, 1981). This kind of approach was also used by us to prepare a medium capable of allowing a low level of xylogenesis on the culture of an established callus, derived from leaf mesophyll of *Sedum telephium* L. (PISSARRA *et al.*, 1984).

As far as preparation of the culture medium is concerned a doubt krept in, since there are reports on the stability of ABA to sterilization by humid heat (WATSON & HALPERIN, 1981; DODDS & ROBERTS, 1982) whereas others advised the use of filter sterilization (HADDON & NORTHCOTE, 1976).

This paper reports on the results obtained with both procedures of medium preparation, *i. e.*, addition of ABA to the solution before autoclaving and addition of this hormone to an already sterilized medium through filter sterilization.

## MATERIAL AND METHODS

### Tissue culture conditions

Gamborg's B-5 medium (GAMBORG *et al.*, 1968), supplemented with  $10 \text{ mg.dm}^{-3}$  of benzylaminopurine and  $0.1 \text{ mg.dm}^{-3}$  of naphthalene acetic acid, solidified with 0.6% agar, was used to maintain an established callus culture, derived from mesophyll tissue of *Sedum telephium* L., growth conditions which furnished control for the present study. Pieces of calli (*ca.*  $1 \text{ cm}^3$ ) were used as inocula, transferred to plastic petri-dishes, and subjected to two types of treatment with abscisic acid (ABA) added to the above referred medium at the final concentration of  $5 \text{ mg.dm}^{-3}$ .

In one case the treatment medium was sterilized after addition of ABA, substance that was in this way subjected to  $120^\circ \text{C}$ , under 1 atmosphere, during 20 minutes (henceforth referred to as ABA-A medium); in the other case the treatment medium was prepared by aseptically adding ABA through a  $0.45 \mu\text{m}$  mesh Millipore membrane to a medium already autoclaved and cooled to about  $45^\circ \text{C}$  (henceforth referred to as ABA-F medium).

Cultures were kept in a growth cabinet at  $27^\circ \text{C}$  in a 12 h light period ( $10 \text{ W.m}^{-2}$ ), and subcultured at 15 days interval.

Samples for cell countings, bioassays and electron microscopy were collected after 15 or 30 days culture.

### Cell countings

From each one of the three experimental situations at least three samples were randomly chosen, weighted and macerated in  $1 \text{ cm}^3$  of a solution of 5% chromic acid in 5% chloridric acid, for approximately 24 h at room temperature. The macerate was then repeatedly drawn into a syringe through a 23G needle.

Aliquots of the suspension were placed on Neubauer chambers (0.100 mm depth) and counts of both parenchyma cells and tracheary cells in them performed in a phase contrast microscope; tracheary cells were expressed as percentage of total parenchyma cells per gramme of tissue fresh weight.

### Biochemical assays

Total carbohydrates contents was determined by the anthrone reaction modified by HASSID & ABRAHAM (1957); the amount of

soluble proteins in aqueous homogenates was calculated spectrophotometrically with the Folin reagent (LOWRY *et al.*, 1951).

### Electron microscopy

Samples were fixed at room temperature, in 2.5% glutaraldehyde followed by 2% osmium tetroxide, using Na-PIPES buffer (SALEMA & BRANDÃO, 1973), routinely dehydrated in acetone and embedded in Epon 812 through propylene oxide. Ultrathin sections were cut in a LKB Ultratome, using diamond or glass knives, mounted on uncoated 400 mesh or coated 200 mesh grids and contrasted with uranyl acetate and lead citrate. Observation was carried out on a Siemens Elmiskop IA, and images recorded on Agfa-Gevaert 23 D cut film.

### RESULTS

Callus tissue growing on Gamborg's B-5 medium enriched as pointed out under Material and Methods had a green colour appearance and presented some friability. This callus tissue basically consisted of few types of cells, easily recognized under the electron microscope.

### Electron microscopy

On samples of callus tissue collected after 15 days of culture on control (ABA-free) medium, one type of cells appeared less differentiated, more meristem-like, whereas another type had a huge central vacuole, differentiated chloroplasts, somehow resembling chlorenchyma cells. A third type comprised vascular elements.

The first type, as shown in Fig. 1, Plate I, had thin walls indicative of recent cytokinesis, the nucleus, when included in the section, appeared surrounded by a distinct envelope in which pores were occasionally evident. The cytoplasm contained the organelles usually found in this type of cells. Abundant ribosomes and frequent polysomes could be seen as expected in actively synthesizing cells. Dictyosomes were present in relatively large numbers. Plastids with a dense stroma and a few starch grains were also observed. Mitochondria with irregularly-arranged cristae and rough endoplasmic reticulum could also be seen.

The other type of more differentiated cells (Fig. 2, Pl. I) differed mostly by the degree of vacuolation, generally with a single large vacuole per cell, with the cytoplasm restricted to a thin peripheral layer adpressed to the cell wall. These callus cells had a typical parenchyma structure, displaying normal constitution as far as organelle types, number and organization are concerned. Plastids with well developed grana, abundant starch, few scattered plastoglobuli in a ribosome rich stroma, could be seen in the cytoplasmic strip, bulging into the vacuole due to its dimensions, the nucleus also protuding to the vacuole side, whereas the other organelles and structures like mitochondria, endoplasmic reticulum, dictyosomes, polysomes appeared evenly distributed all over the cytoplasm. Among these callus large intercellular spaces were often seen.

Vascular elements, which appeared completely differentiated at the end of 15 days culture comprised tracheids with a well developed helicoidal secondary wall and sieve cells showing thick cell walls with sieve areas, P-protein and few membranes in the lumen.

The described general organization of meristem-like cells appeared unchanged when similar type of cells grown on ABA-A medium and on ABA-F medium where studied. Cytoplasm with numerous ribosomes and polysomes, well developed rough endoplasmic reticulum with cisternae and vesicles, dictyosomes, and dictyosome derived vesicles, plastids, abundant well developed mitochondria, cortical microtubules, nucleus with some masses of condensed chromatin, were features commonly observed and shown in Figs. 3, Pl. II and 5, Pl. III.

Figs. 4, Pl. II and 6, Pl. III illustrate parts of callus parenchyma cells treated, respectively, with ABA-A and ABA-F in which plastids having grana stacks, mitochondria with intact envelopes and irregularly arranged internal cristae, endoplasmic reticulum with cisternae frequently running parallel to the cell periphery, isolated areas of membranous vesicles and a nucleus may be seen.

### Cell countings

Tracheary cells are easily recognized by their helicoidal-reticulate secondary wall thickenings, strikingly contrasting with parenchyma cells. The amount (percentage) of tracheary cells

in calli grown for 15 days in media containing ABA, either autoclaved (ABA-A medium) or filtered (ABA-F medium) was almost the same, showing no significant difference (Table I). In both cases these values were some 30 % lower than in the ABA-free control medium (Table I). After this first two weeks treatment calli were subcultured to fresh media, for a further fortnight growth period. Unexpectedly, the pattern of differentiation appeared highly different from the previous described one. Indeed, callus tissue grown in ABA-F medium showed a percentage of tracheary cell differentiation as low as 3.5 %, whereas ABA-A medium promoted an almost double differentiation of xylem-like cells (6.6 %) in the callus tissue grown in it, meaning that the latter conditions were leading to only about 20 % inhibition in comparison to the control material, and that the former had an inhibition capacity as high as some 58 % (Table I).

TABLE I

Effect of autoclaved or filter sterilized ABA on % of tracheary elements in tissues grown for 15 and 30 days culture periods (figures between brackets represent differences to control considered as 100 %)

% tracheary elements

	15 days	30 days
Control (ABA-free)	8.1	8.3
ABA-A	5.7 (-30)	6.6 (-20)
ABA-F	5.5 (-32)	3.5 (-58)

### Biochemical assays

To evaluate the effects of the different treatments in the cultured calli, biochemical determinations were done after 15 and 30 days of growth.

The first series of determinations showed that soluble proteins were lower in material from ABA-F medium than in tissues



grown in ABA-A medium, whereas carbohydrates behaved in a reversed way (Table II).

Curiously enough, this same type of effects was observed at the end of 30 days culture, in what concerns both soluble proteins and carbohydrates contents (Table II).

Water contents of the calli seem to be little affected by ABA treatment in either one or other situation, as can be seen in Table II.

TABLE II

Soluble proteins and total carbohydrates contents ( $\text{mg.g}^{-1}$  fresh weight) and percentage of water in tissues grown on control, ABA-A and ABA-F media for 15 and 30 days culture periods

	Soluble proteins $\text{mg.g}^{-1}$ f. w.		Carbohydrates $\text{mg.g}^{-1}$ f. w.		Water percentage
	15 days	30 days	15 days	30 days	
Control (ABA-free)	2.20	2.88	5.19	6.61	97.3
ABA-A	2.51	3.19	7.46	7.87	96.9
ABA-F	2.01	1.65	9.13	8.35	96.8

## DISCUSSION

It is by now well established that a wide range of plant physiological growth and developmental processes are influenced by more than one phytohormone and that ABA is one of the most important in the network of interactions between antagonistic and synergistic growth regulators such as cytokinins and auxins (MILBORROW, 1974; KANSAKAR & BAJRACHARYA, 1978). There are a few reports showing the interaction between ABA and the process of cytodifferentiation. ABA, added before autoclaving or added after it through filter-sterilization, prevented cytodifferentiation to tracheary elements in artichoke explants (MINOCHA & HALPERIN, 1974; WATSON & HALPERIN, 1981) and in bean callus (HADDON & NORTHCOTE, 1976), when these model systems were analysed for relatively shorter culture periods than 21 days.

In our experiments during the first period of growth studied (15 days) both autoclaved and filtered ABA showed inhibitory capacity, with no significative difference between them. In

agreement with that, electron microscope study of callus cells grown in either media (ABA-A and ABA-F) showed no noticeable ultrastructural alterations, neither in meristem-like cells (Figs. 3, Pl. II and 5, Pl. III) nor in parenchyma cells (Figs. 4, Pl. II and 6, Pl. III), when compared among them or in comparison with the control (Figs. 1 and 2, Pl. I). In meristem-like cells dictyosomes were numerous as well as active in producing vesicles. It is by now well established that dictyosomes are involved in synthesizing polysaccharide materials for cell walls and that these materials are transported by vesicles. Also related to the growth of the cell wall is the presence of microtubules in the cortical cytoplasm next to the plasmalemma. Microtubules have been linked with the process of orientation of cellulose microfibrils (NEWCOMB, 1969; HEPLER & PALEVITZ, 1974) and the commonly held view is that they may serve as tracks or pathways for migrating dictyosome vesicles. Another noticeable cytoplasmic feature was the presence of well-developed mitochondria, abundant in young cells, certainly endowed with carrying out various growth processes. Electron-dense spherical bodies similar to lipid bodies or spherosomes, are also present in the cytoplasm. Chloroplasts, in callus parenchyma cells, besides the normal ultrastructural pattern of organization and starch deposition, may show a large inclusion formed by the aggregation of tubules (Fig. 5, Pl. III). These inclusions are currently found in chloroplasts of *S. telephium* L. (BRANDÃO & SALEMA, 1974) and also in chloroplasts of some other CAM species (SANTOS & SALEMA, 1981).

The ultrastructural features described in the preceding section suggest that callus cells of *S. telephium* L. were metabolically active at the developmental stages examined in all three conditions.

This type of data obtained after the first short term culture (15 days) showed no significant differences between ABA-A and ABA-F grown material, a situation which could be taken in accordance to the statement of WATSON & HALPERIN (1981) concerning media preparation.

However, biochemical determinations revealed some differences, as presented in Table II. Interestingly, the same pattern of differences appeared in material cultured during 30 days, *i. e.*, soluble proteins appeared reduced in ABA-F medium whereas carbohydrates appeared increased in the same medium.

From this, the conclusion could be drawn that, at least on biochemical grounds, the two treatments essayed induced different results.

Also, after the longer treatment, different values were found for the inhibitory capacity of ABA on xylogenesis, with the highest figure (58 % of inhibition) going to ABA-F and ABA-A showing much reduced activity (only 20 % of inhibition). These results are in accordance to the detrimental effect of autoclaved ABA reported by SAVIDGE (1983b) when working with cultured explants of *Pinus contorta*.

Although heat sterilization apparently has no effect on the isomers of abscisic acid (WILMAR & DOORNBOS, 1971) the above results showed that callus tissue from *S. telephium* L. was not indifferent to medium preparation procedure (autoclaving or filtering) possibly due to a less active abscisic acid molecule produced by moisted heat treatment. It is known that substances which are stable when autoclaved in pure aqueous solution, may be chemically modified when autoclaved in the presence of other medium constituents (STREET, 1973) as was the case here studied.

The physiological activities of ABA may be considered to be due, at least in part, to the ability to strongly influence the synthesis of certain enzymes without greatly affecting others (ADDICOTT & LYON, 1969).

It has been reported that ABA can also act by inhibiting synthesis of specific types of mRNAs and, therefore, the formation of specific proteins (VILLIERS, 1968; PALMER, 1985) an interference which might well explain the found diminution of protein level on ABA-F treated material.

On the other hand, if it is not clear whether the inhibition of ABA on nucleic acid synthesis is direct or indirect, it appears that it may act selectively on protein synthesis since suggestions have been made that ABA may affect only directly the synthesis of those proteins whose production is under hormonal control (WALTON, 1980).

Abscisic acid was found to decrease the synthesis of  $\alpha$ -amylase in barley aleurone layers (HO & VARNER, 1976), and also to promote the accumulation of assimilates, mainly sucrose in treated cuttings of *Phaseolus coccineus* L. (HARTUNG *et al.*, 1980); however PALEJWALA *et al.* (1985) reported stimulated synthesis

of carbohydrates and even determined elevated levels of gluconeogenic enzymes a situation which seems to bear some similarity to the observed increased amount of total carbohydrates found in our material grown in media containing the most active form of ABA (ABA-F).

The weak ABA inhibition of xylogenesis obtained in the first period studied (15 days) could very well be a consequence of endogenous hormone levels, carried over from previous growth conditions, an interpretation that receives support from the fact that the situation appeared altered when enlarging the period of treatment.

The data obtained show that autoclaving ABA is most inadequate, strongly recommending the sterilization of this hormone by microfiltration.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

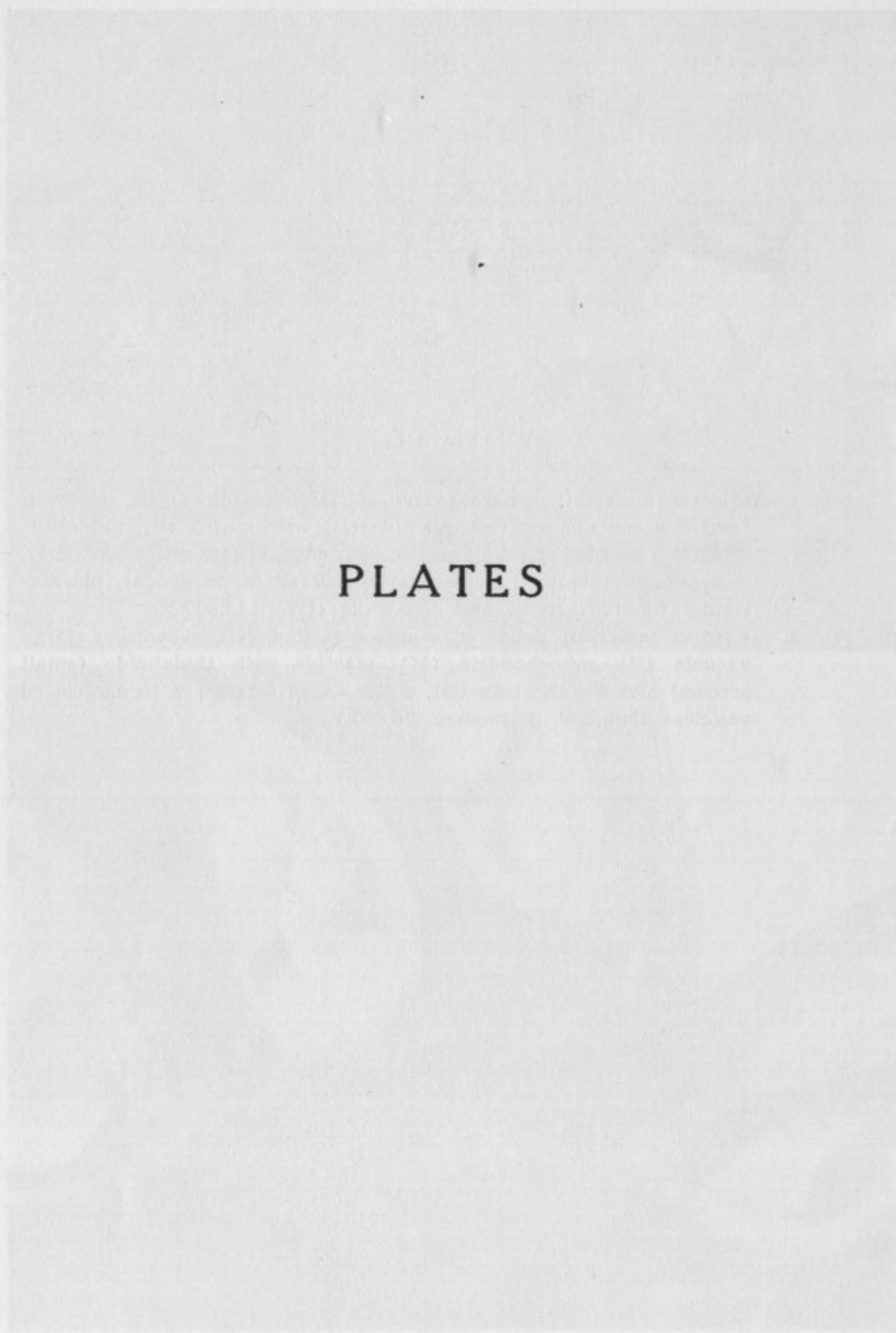
Grants from INIC and from University of Porto (Contract 41/84) are gratefully acknowledged.

#### REFECENCES

- ADDICOTT, F. T. & LYON, J. L.  
1969 Physiology of abscisic acid and related substances. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **20**: 139-164.
- BRANDÃO, I. & SALEMA, R.  
1974 Microtubules in chloroplasts of a higher plant (*Sedum* sp.). *J. Submicr. Cytol.* **6**: 381-390.
- DALESSANDRO, G.  
1973 Hormonal control of xylogenesis in pith parenchyma explants of *Lactuca*. *Ann. Bot.* **37**: 375-382.
- DODDS, J. H. & ROBERTS, L. W.  
1982 «Experiments in plant tissue culture». Cambridge University Press, Cambridge.
- GAMBORG, O. L., MILLER, R. A. & OJIMA, K.  
1968 Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* **50**: 151-158.
- HADDON, L. & NORTHCOTE, D. H.  
1976 The influence of gibberellic acid and abscisic acid on cell and tissue differentiation of bean callus. *J. Cell Sci.* **20**: 47-55.
- HARTUNG, W., OHL, B. & KUMMER, V.  
1980 Abscisic acid and the rooting of runner bean cuttings. *Z. Pflanzenphysiol.* **98**: 95-103.

- HASSID, W. Z. & ABRAHAM, S.  
1957 Chemical procedures for analysis of polysaccharides. *Methods in Enzymology* **3**: 34-50.
- HEPLER, P. K. & PALEVITZ, B. A.  
1974 Microtubules and microfilaments. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **25**: 309-362.
- HO, D. T.-H. & VARNER, J. E.  
1976 Response of barley aleurone layers to abscisic acid. *Plant Physiol.* **57**: 175-178.
- KANSAKAR, S. & BAJRACHARYA, D.  
1978 The effect of abscisic acid and its interaction with other growth hormones in the germination and growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Z. Pflanzenphysiol.* **88**: 189-199.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. & RANDALL, R. J.  
1951 Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- MILBORROW, B. V.  
1974 The chemistry and physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **25**: 259-307.
- MINOCHA, S. C.  
1984 The role of benzyladenine in the differentiation of tracheary elements in Jerusalem artichoke tuber explants cultured *in vitro*. *J. Exp. Bot.* **35**: 1003-1015.
- MINOCHA, S. C. & HALPERIN, W.  
1974 Hormones and metabolites which control tracheid differentiation, with or without concomitant effects on growth, in cultured tuber tissue of *Helianthus tuberosus* L. *Planta* **116**: 319-331.
- NEWCOMB, E. H.  
1969 Plant microtubules. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **20**: 253-288.
- NOEL, A. R. A., BORNMAN, C. H. & SNIJMAN, D. A.  
1977 *Nicotiana tabacum* Callus studies. VI. Quantitative hormonal effects on tracheary element differentiation. *Z. Pflanzenphysiol.* **83**: 109-114.
- PALEJWALA, V. A., PARIKH, H. R. & MODI, V. V.  
1985 The role of abscisic acid in the ripening of grapes. *Physiol. Plant.* **65**: 498-502.
- PALMER, C. E.  
1985 The effect of abscisic acid on amino nitrogen and protein content of potato plants in relation to the inhibition of nitrate reductase activity. *Plant Cell Physiol.* **26**: 1083-1091.
- PHILLIPS, R. & DODDS, J. H.  
1977 Rapid differentiation of tracheary elements of Jerusalem artichoke. *Planta* **135**: 207-212.
- PISSARRA, J., SANTOS, I. & SALEMA, R.  
1984 Inhibitory effect of abscisic acid on xylogenesis in callus tissue from *Sedum telephium* L. *Cienc. Biol.* **9**: 130-131.
- ROBERTS, L. W.  
1969 The initiation of xylem differentiation. *Bot. Rev.* **35**: 201-250.

- SALEMA, R. & BRANDÃO, I.  
1973 The use of PIPES buffer in the fixation of plant cell for electron microscopy. *J. Submicr. Cytol.* **5**: 79-96.
- SANTOS, I. & SALEMA, R.  
1981 Chloroplast microtubules in some CAM-plants. *Bol. Soc. Brot. ser. 2*, **53**: 1115-1122.
- SAVIDGE, R. A.  
1983a The role of plant hormones in higher plant cellular differentiation. I. A Critique. *Histochemical J.* **15**: 437-445.  
1983b The role of plant hormones in higher plant cellular differentiation. II. Experiments with the vascular cambium, and sclereid and tracheid differentiation in pine, *Pinus contorta*. *Histochemical J.* **15**: 447-466.
- STREET, H. E.  
1973 Laboratory organization. In: «Plant Tissue and Cell Culture», Botanical Monographs, vol. 11, Ed. H. E. STREET, pp. 11-30. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- TORREY, J. G., FOSKET, D. E. & HEPLER, P. K.  
1971 Xylem formation: a paradigm of cytodifferentiation in higher plants. *Amer. Sci.* **59**: 338-352.
- VILLIERS, T. A.  
1968 An autoradiographic study of the effect of the plant hormone abscisic acid on nucleic acid and protein metabolism. *Planta* **82**: 342-354.
- WALTON, D. C.  
1980 Biochemistry and physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **31**: 453-489.
- WATSON, B. & HALPERIN, W.  
1981 Reinvestigation of the effects of hormones and sugars on xylogenesis in cultured Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tuber slices, with particular emphasis on the effects of different methods of media preparation and tissue analysis. *Z. Pflanzenphysiol.* **101**: 145-158.
- WILMAR, J. C. & DOORBOS, T.  
1971 Cited by DODDS & ROBERTS, 1982.

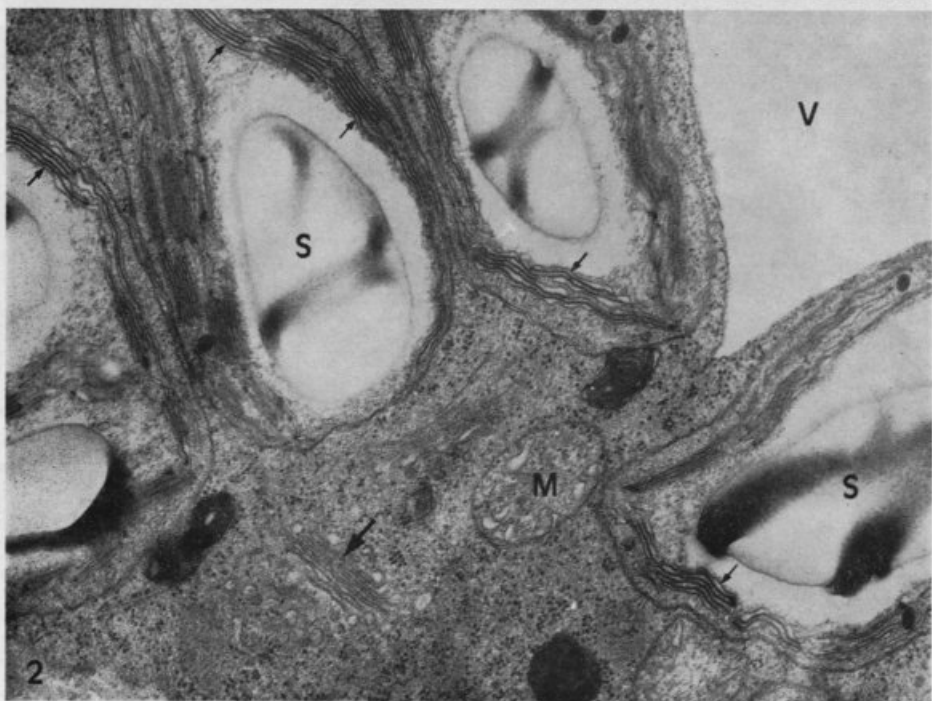
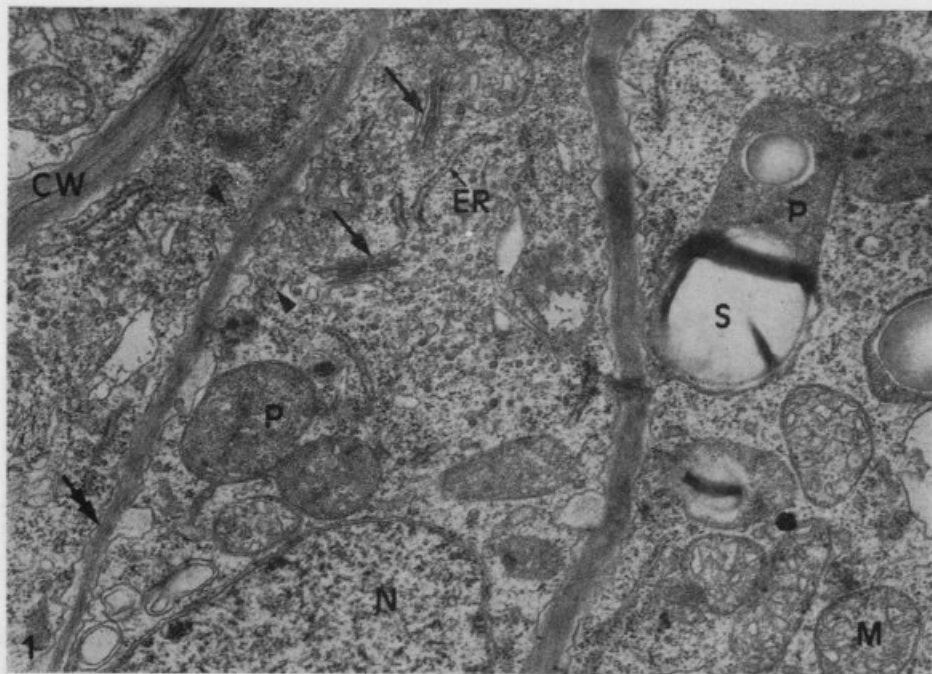


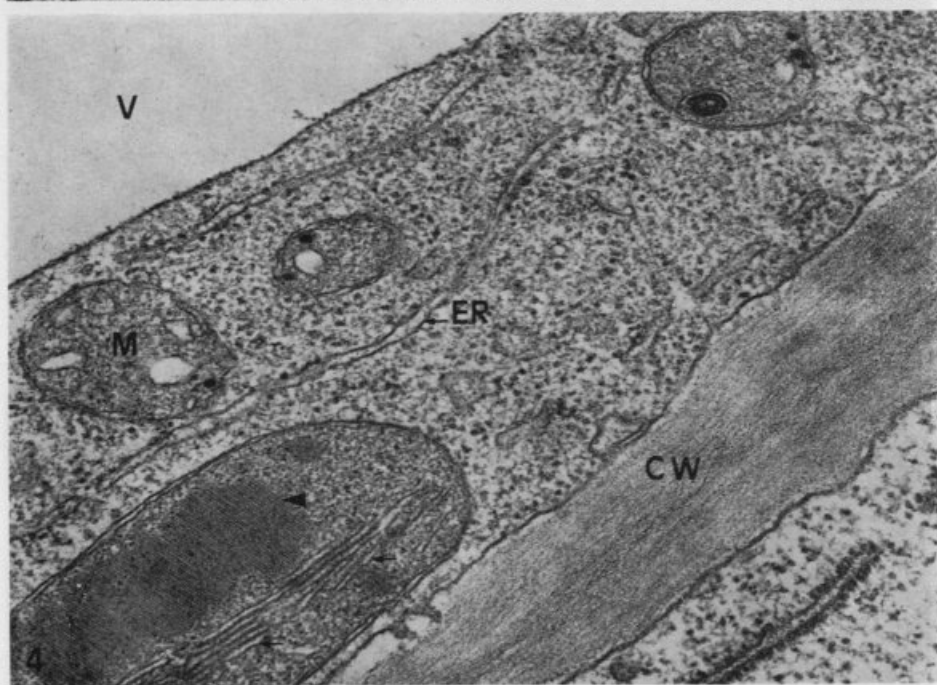
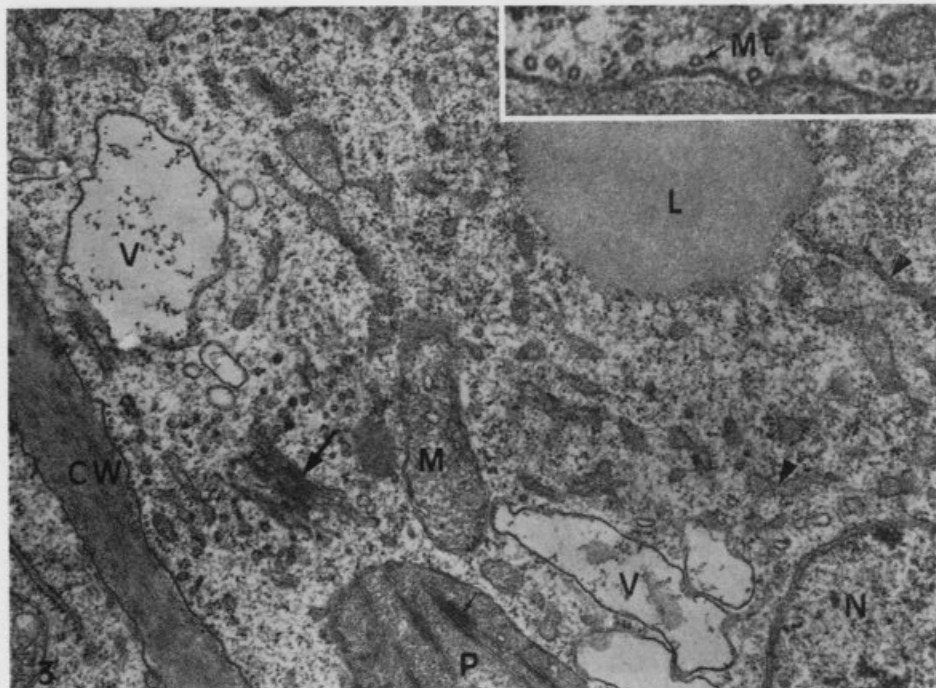
# PLATES

PLATE I

- Fig. 1. — Control material; general view of meristem-like cells, showing part of a cell nucleus (N), plastids (P) with starch (S), mitochondria (M), profiles of rough and smooth endoplasmic reticulum (ER), dictyosomes (arrows), numerous polysomes (arrowheads), plasmalemma (double arrow) and cell walls (CW). 19,800 X.
- Fig. 2. — Control material; detail of a differentiated cell, showing a large vacuole (V), mitochondria (M), plastids with thylakoids (small arrows) and starch grain (S), dictyosomes (arrow) with associated vesicles, abundant polysomes. 26,600 X.







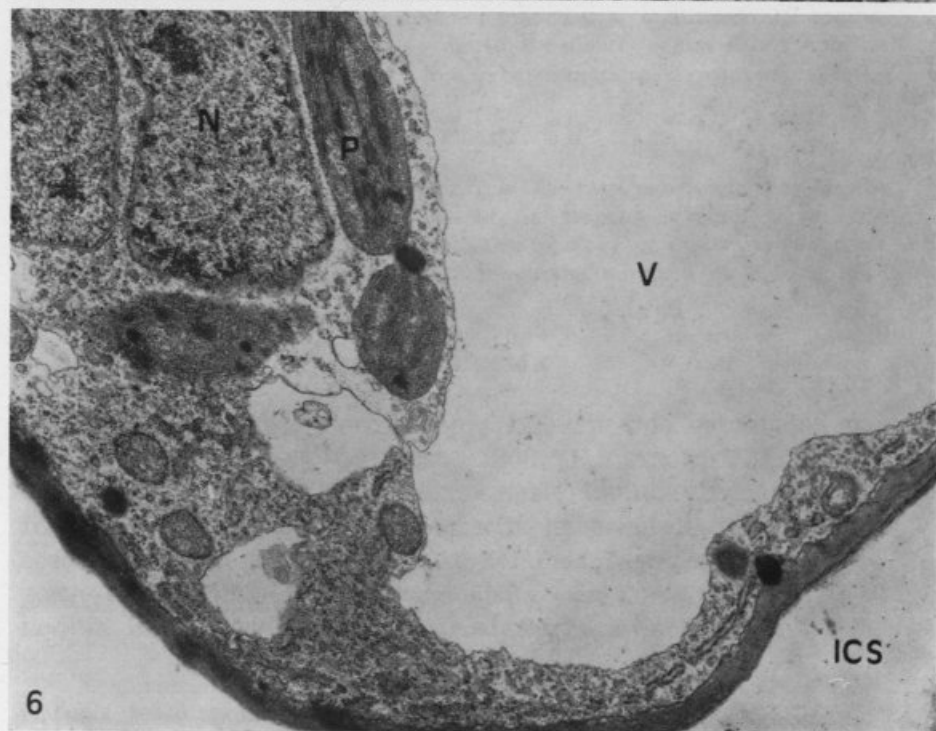
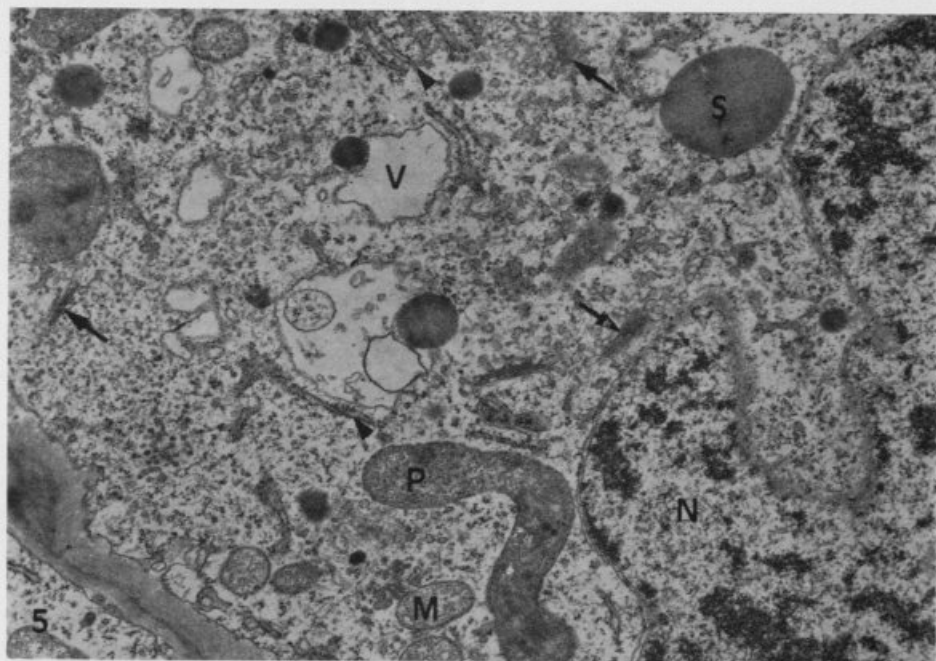
## PLATE II

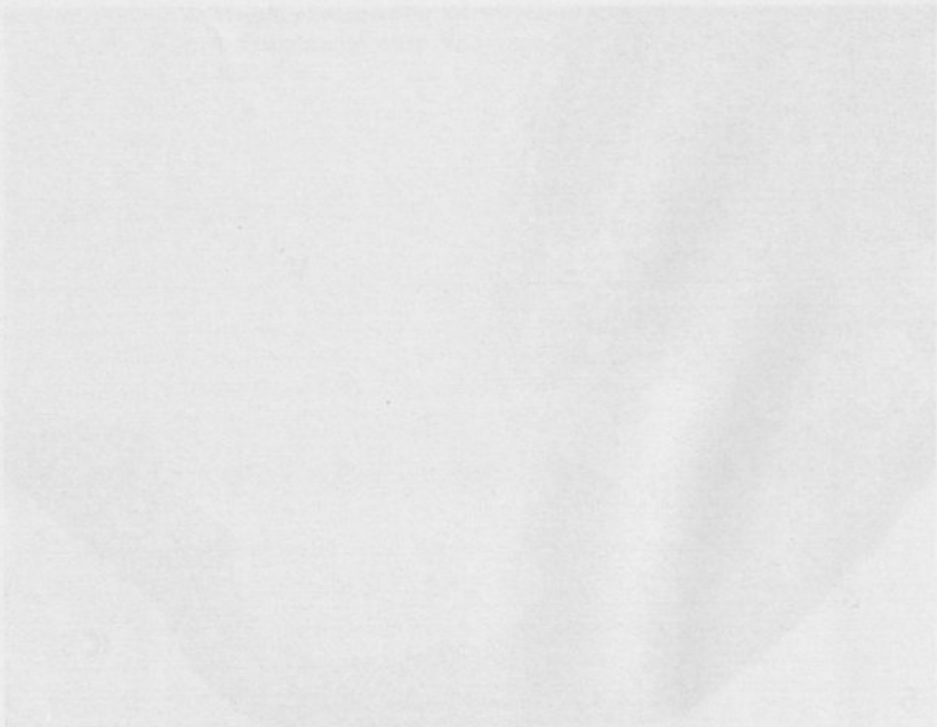
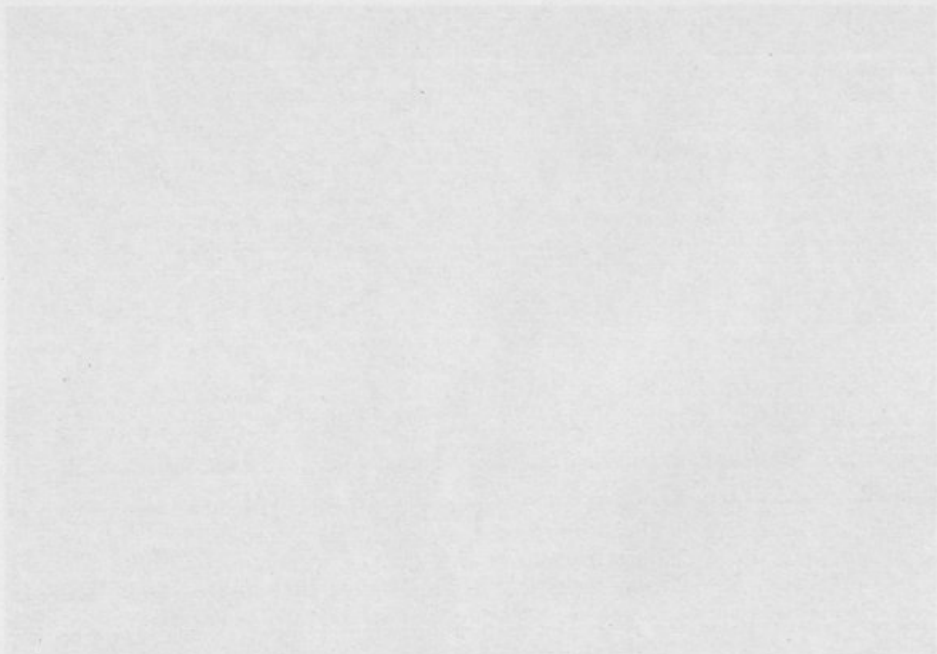
Fig. 3. — ABA-A treated material; portion of meristem-like cell, with nucleus (N), small vacuoles (V), plastid (P) with thylakoids (small arrow), mitochondria (M), dictyosome (arrow), cisternae and vesicles of endoplasmic reticulum (arrowheads), lipid body (L), cortical microtubules (Mt) near the plasmalemma bordering the upper side of the cell wall (CW) showed at higher magnification in the inset. 21,000  $\times$ ; inset 63,000  $\times$ .

Fig. 4. — ABA-A treated material; region of contact of two differentiated-type cells showing cell wall (CW), large vacuole (V), ribosome rich cytoplasm, mitochondria (M), endoplasmic reticulum (ER), plastid with thylakoids (small arrows) and a tubular protein inclusion (arrowhead), in longitudinal view. 28,000  $\times$ .

PLATE III

- Fig. 5. — ABA-F treated material; general view of part of meristem-like cells with lobuled nucleus (N), plastids (P), mitochondria (M), dictyosomes (arrows) and dictyosome derived vesicles, small vacuoles (V), endoplasmic reticulum profiles (arrowheads), spherosome (S). 10,800  $\times$ .
- Fig. 6. — ABA-F treated material; differentiated-type of cell showing nucleus (N) and plastids (P) with grana and stroma lamellae, polysome rich cytoplasmic strip and vacuole (V); intercellular space (ICS). 13,300  $\times$ .





## EL GÉNERO *RUPPIA* L. (*POTAMOGETONACEAE*) EN LA MANCHA (ESPAÑA)

por

SANTOS CIRUJANO \*

Recibido el 24 Setembro 1986.

### RESUMEN

CIRUJANO, S. (1986). El género *Ruppia* L. (*Potamogetonaceae*) en la Mancha (España).

Se estudia la distribución de *R. maritima* L. var. *maritima* y *R. drepanensis* Tineo en las lagunas salobres manchegas, analizando la composición florística y tipología de las aguas de dichos enclaves. Se aportan datos sobre la morfología y números cromosómicos de ambas especies.

### ABSTRACT

The distribution of *Ruppia maritima* L. var. *maritima* and *Ruppia drepanensis* Tineo in the salty ponds of La Mancha is studied, with an analysis of the floristic composition and the typology of the waters of these areas. Data of the morphology and chromosome numbers of both species are presented.

### INTRODUCCIÓN

LAS especies del género *Ruppia* L., han sido estudiadas por diversos autores (GAMERRO, 1968; HAGSTRÖM, 1911; MARCHIONI, 1982; REESE, 1962; ROZE, 1904; VERHOEVEN, 1979). La taxonomía de este género cosmopolita ha estado sujeta a numerosas revisiones incluyéndose en las familias *Ruppiaceae* (HUTCHINSON, 1959), *Potamogetonaceae* e incluso en *Zosteraceae* y *Najadaceae*. Revisiones sistemáticas posteriores se inclinan, dadas las

\* Departamento de Botánica. Facultad de Biología. Universidad Complutense, 28040 Madrid.

similitudes de morfología vegetativa, anatomía y especialmente morfología floral (POSLUZNY & SATTLER, 1974), por su inclusión en la familia *Potamogetonaceae* (DAVIS & TOMLINSON, 1974; SINGH, 1965). Las variaciones morfológicas y de comportamiento reproductivo, que expresan aparentemente la adaptación de las especies del género a los diversos habitats han conducido a la descripción de numerosas especies. Finalmente estas han quedado reducidas a variedades o formas, lo que da idea de su complejidad (GAMERRO, 1968; REESE, 1962; SETCHELL, 1946; VERHOEVEN, 1979).

#### ASPECTOS TAXONÓMICOS

Los caracteres morfológicos más utilizados para separar las distintas especies y variedades del género *Ruppia* son la longitud y espiralización del pedúnculo floral, longitud del podogino, anchura de las hojas y características del ápice foliar, tamaño de las tecas y morfología del fruto (FERNALD & colab., 1914; MARCHIONI, 1982; VAN VIERSSEN & colab., 1981; VERHOEVEN, 1979). En base a los datos aportados por dichos autores y nuestras propias observaciones hemos detectado en las lagunas salobres manchegas la presencia de *R. drepanensis* como especie más frecuente y *R. maritima* var. *maritima* más escasa. Ambos táxones pueden identificarse utilizando la clave adjunta:

- 1 Pedúnculos de la inflorescencia largos (> 10 cm) arrollados en espiral. Tecas grandes de 1.2-1.6 mm de longitud . . . . .  
 . . . . . *Ruppia drepanensis* Tineo
- 2 Pedúnculos de la inflorescencia cortos (< 3 cm) no arrollados en espiral. Tecas pequeñas de 0.5-0.9 mm de longitud . . . . .  
 . . . . . *Ruppia maritima* L. var. *maritima*

***Ruppia drepanensis* Tineo in Guss., Fl. Sicul. Syn. 2: 878 (1944).**

≡ *R. maritima* L. subsp. *drepanensis* (Tineo) Maire & Weiller

≡ *R. maritima* var. *drepanensis* (Tineo) C. Schum.

= *R. aragonensis* Loscos & Pardo ex. Willk.

Planta provista de largos pedúnculos florales (> 10 cm) arrollados en espiral. Longitud media del podogino superior a 15 mm ( $18 \pm 0.5$ ). Hojas de subcilíndricas a semicirculares que no alcanzan los 0.5 mm de anchura (0.17-0.36) con ápice agudo irregularmente denticulado (Fig. text. 1Ba), provistas de un



nervio central (Fig. text. 1A). Vainas de las hojas florales ensanchadas superando los 4 mm de anchura. Tecas grandes de 1.2-1.6 mm de longitud. Polen curvado con exina reticulada inconspicua en ambos extremos y polo distal convexo (Fig. text. 2A y B). Fruto en drupa piriforme de asimetría muy variable, dominando los acusadamente asimétricos (Lám. I, fig. A, B y C). Endocarpo provisto de dos pequeñas depresiones esponjosas, a ambos

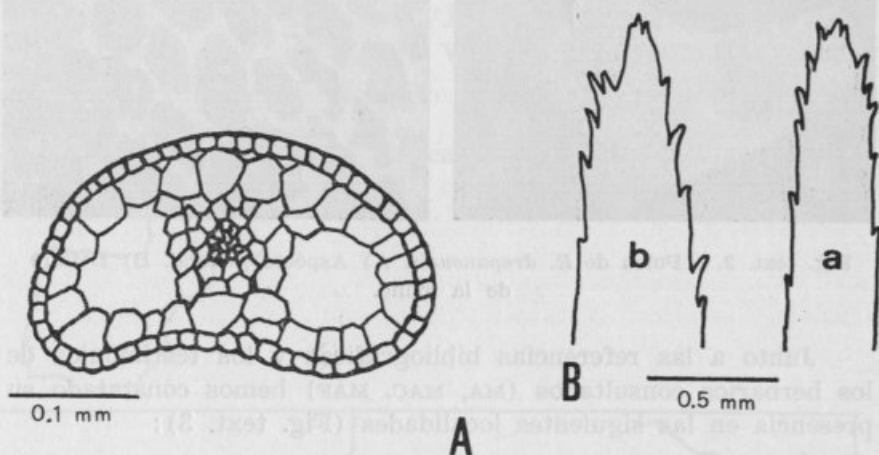


Fig. text. 1. — A) Corte transversal de la hoja de *R. drepanensis*.  
 B) Detalle del ápice foliar de *R. drepanensis* (a) y *R. maritima* var. *maritima* (b).

lados del rostro, que se alargan al aumentar la asimetría (Lám. I, fig. C). Polinización en la superficie del agua (efidrógama). Nuestros recuentos cromosómicos ( $2n = 20$ ; TOLEDO: Lillo, Laguna de Lillo MA 229641) coinciden con los descritos en la bibliografía (MARCHIONI, 1982).

La presencia de *R. drepanensis* fué señalada por primera vez en La Mancha por REYES PROSPER (1915) que la recolectó en la laguna de Tírez, donde ha desaparecido y en la laguna de Pétrola. Citas posteriores son las de HUGUET DEL VILLAR (1925, 1937) que la menciona («*R. maritima* L. subsp. *spiralis* L. hb. Ascherson & Graebner») de la meseta Sur y posteriormente destaca su presencia («*R. maritima* f. *spiralis*») en las lagunas de Villacañas (cita recogida posteriormente por RIVAS GODAY & ASENSIO, 1945), donde también hay que lamentar su desaparición. Nosotros amplia-

mos su distribución (CIRUJANO, 1980) al localizarla en las lagunas de El Hito, Atillo y Lillo. En esta última no ha logrado desarrollarse en los últimos años.

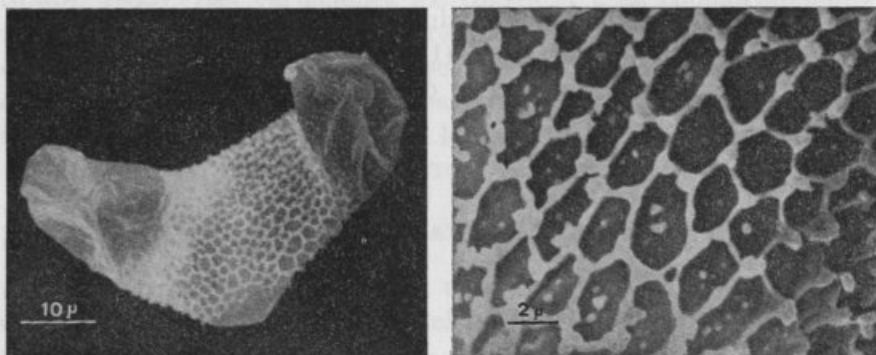


Fig. text. 2. — Polen de *R. drepanensis*. A) Aspecto general. B) Detalle de la exina.

Junto a las referencias bibliográficas y los testimonios de los herbarios consultados (MA, MAC, MAF) hemos constatado su presencia en las siguientes localidades (Fig. text. 3):

#### Provincia de Albacete:

3. Corral Rubio, Lag. de Corral Rubio, 30S XH3599, MA 310139.
4. Corral Rubio, Lag. de Corral Rubio, 30S XH3399, MA 310138.
5. Higuera, Lag. del Salobrejo, 30S XJ3309, MA 310133.
6. La Higuera, Lag. de Hoya Rasa, 30S XH3695. (S. CIRUJANO, V-1985).
7. La Higuera, Lag. de Mojon Blanco, 30S XH3696. (S. CIRUJANO, V-1985).
8. La Higuera, Lag. del Saladar, 30S XH3795. (S. CIRUJANO, V-1985).
9. Pétrola, Lag. de Pétrola, 30S XJ 2500, MA 310136.

#### Provincia de Ciudad Real:

1. Malagón, Lag. de Nava Grande, 30S VJ1937, MA 310134.
10. Pozuelo de Calatrava, Lag. de Pozuelo, 30S VJ2808, MA 310131.

Provincia de Cuenca:

11. Montalbo, Lag. de El Hito, 30S WK2613, MA 310132.
12. Mota del Cuervo, Lag. de Manjavacas, 30S WJ1263, MA 310135.

Provincia de Toledo:

13. Lillo, Lag. del Altillo, 30S VJ7595, MA 310130.
14. Lillo, Lag. del Altillo, 30S VJ7594, MA 310129.
2. Lillo, Lag. de Lillo, 30S VJ7395, MA 229641.
15. Ocaña, El Salobral, 30T VK4630, MAF 107336, 108560.
16. Villacañas, Lag. de Tírez, 30S VJ7077. (REYES PROSPER, 1915).
17. Villacañas, Lags. de Villacañas, 30S VJ7384. (HUGUET DEL VILLAR, 1937).

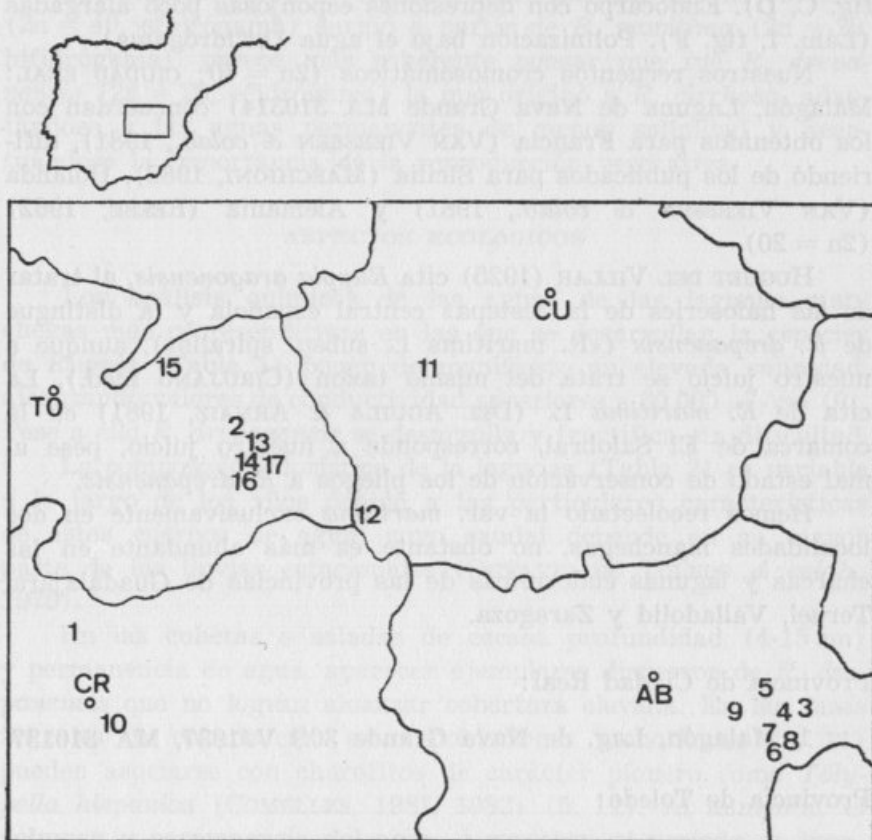


Fig. text. 3. — Localización geográfica del género *Ruppia* en La Mancha.

**Ruppia maritima** L. Sp. Pl.: 127 (1753).var. **maritima**= *R. rostellata* Koch= *R. maritima* L. var. *rostrata* Agardh

Planta provista de pedúnculos florales cortos (< 3 cm no espiralados. Longitud media del podogino 10 mm ( $10.5 \pm 0.5$ ). Hojas subhemisféricas que alcanzan los 0.5 mm de anchura (0.38-0.60) con ápice agudo irregularmente denticulado (Fig. text. 1Bb), provistas de un nervio central. Vainas de las hojas florales ligeramente ensanchadas  $\leq 3$  mm. Tecas pequeñas de 0.5-0.9 mm de longitud. Polen con las mismas características que la especie anterior. Fruto en drupa piriforme ligeramente asimétrica (Lám. I, fig. C, D). Endocarpo con depresiones esponjosas poco alargadas (Lám. I, fig. F). Polinización bajo el agua (hifidrógama).

Nuestros recuentos cromosómicos ( $2n = 40$ ; CIUDAD REAL: Malagón, Laguna de Nava Grande MA 310314) concuerdan con los obtenidos para Francia (VAN VIERSEN & colab., 1981), difiriendo de los publicados para Sicilia (MARCHIONI, 1982), Holanda (VAN VIERSEN & colab., 1981) y Alemania (REESE, 1962) ( $2n = 20$ ).

HUGUET DEL VILLAR (1925) cita *Ruppia aragonensis*, al tratar de las haloserias de la «estepa» central española y la distingue de *R. drepanensis* («*R. maritima* L. subsp. *spiralis*»), aunque a nuestro juicio se trata del mismo taxon (CIRUJANO ined.). La cita de *R. maritima* L. (DEL AGUILA & ARNAIZ, 1981) en la comarca de El Salobral, corresponde a nuestro juicio, pese al mal estado de conservación de los pliegos a *R. drepanensis*.

Hemos recolectado la var. *maritima* exclusivamente en dos localidades manchegas, no obstante es más abundante en las charcas y lagunas endorreicas de las provincias de Guadalajara, Teruel, Valladolid y Zaragoza.

## Provincia de Ciudad Real:

1. Malagón, Lag. de Nava Grande 30S VJ1937, MA 310137.

## Provincia de Toledo:

2. Lillo, Lag. de Lillo 30S VJ7395, MA 310128.

#### OBSERVACIONES MORFOLÓGICAS Y TAXONÓMICAS

Aunque VERHOEVEN (1979) concluye que la longitud de pedúnculo floral en *R. cirrhosa* (Petagna) Grande esta determinada por la profundidad del agua, opinamos que en *R. drepanensis* dicho carácter se encuentra fijado genéticamente. En las poblaciones mixtas de *R. maritima*, var. *maritima* y *R. drepanensis* (1) no hemos observado gradaciones en la longitud de dicho pedúnculo. Por otro lado los ejemplares de *R. drepanensis* que, colonizan lagunas con muy escasa profundidad de agua (5-10 cm) (11, 13, 14) y en nuestros cultivos experimentales (profundidad 2-8 cm) siempre desarrollan largos pedúnculos con diverso grado de espiralización.

SCHWANITZ (1967) y REESE (1962) piensan que *R. cirrhosa* ( $2n = 40$ , efidrógama) surgió a partir de *R. maritima* ( $2n = 20$ , hifidrógama), parece más coherente pensar que fué *R. drepanensis* ( $2n = 20$ , efidrógama) la que originó a *R. cirrhosa*, adaptándose a las aguas permanentes de menor salinidad y acentuándose la importancia de la reproducción vegetativa.

#### ASPECTOS ECOLÓGICOS

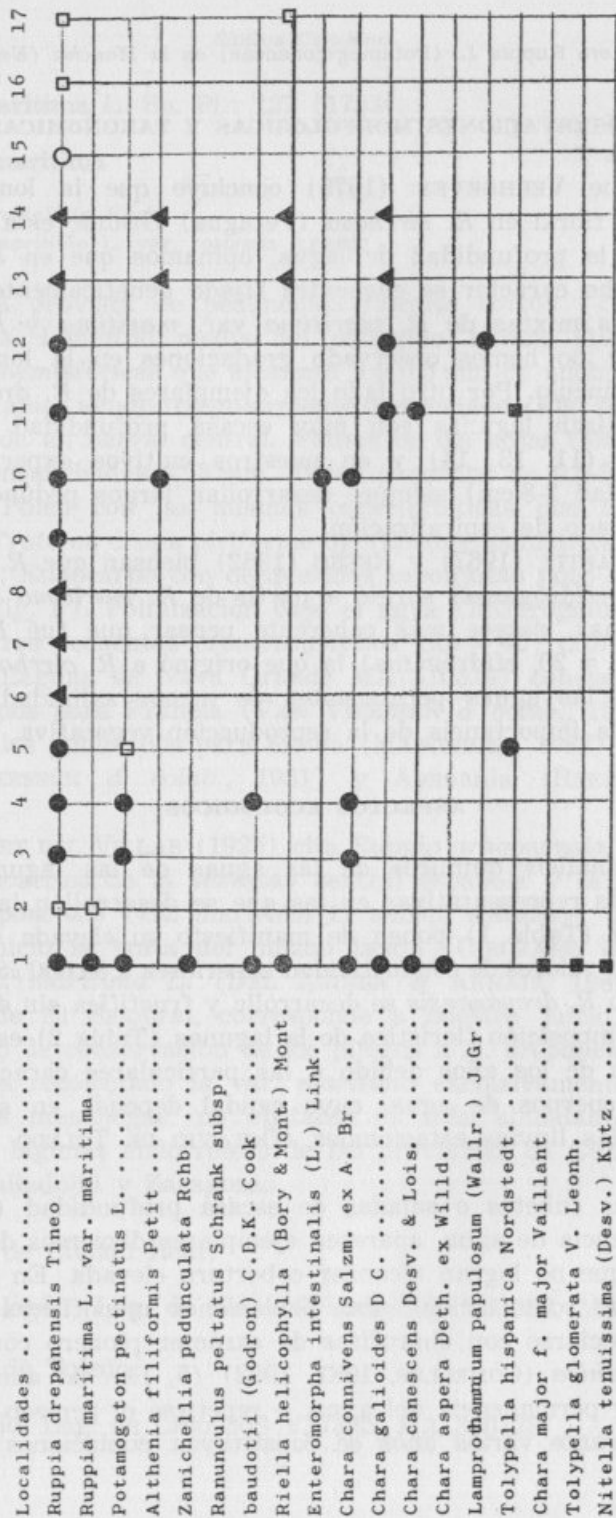
Los análisis químicos de las aguas de las lagunas manchegas más representativas en las que se desarrollan la especies de *Ruppia* (Tabla 1) ponen de manifiesto su elevada salinidad, alcanzando valores de conductividad superiores a  $80\,000\ \mu\text{S}/\text{cm}$  (9). Pese a ello *R. drepanensis* se desarrolla y fructifica sin dificultad.

La composición florística de la lagunas (Tabla 2) es variable a lo largo de los años debido a las particulares características de estos cuerpos de agua, cuyo caudal depende en su mayor parte de las lluvias estacionales (OCTAVIO DE TOLEDO & colab., 1976).

En las cubetas o saladas de escasa profundidad (4-15 cm) y permanencia de agua, aparecen ejemplares dispersos de *R. drepanensis* que no logran alcanzar cobertura elevada. En las fases iniciales de colonización estas poblaciones monofíticas (9, 14) pueden asociarse con charofitos de carácter pionero como *TolyPELLA hispanica* (COMELLES, 1981, 1982) (5, 11). Al aumentar el volumen y permanencia del agua, o repetirse el periodo de inundación durante varios años se constituyen poblaciones de gran

TABLA 1

Composición florística de las formaciones con especies del género *Euppia* en las lagunas manchegas (1985)



● = Presencia constatada; ○ = Testimonio de herbario; ▲ = En años con inundación suficiente;  
 ■ = Referencias bibliográficas □ = Desaparecida.

TABLA 2

Análisis químicos de las aguas de las lagunas manchegas más representativas en las que se desarrollan las especies del género *Ruppia* (*E* = estacional)

	1	3	4	5	9	10	11	12
Localidades . . . . .								
Fecha . . . . .	V-85	VI-85	VI-85	V-85	V-85	V-85	VI-85	VI-85
Profundidad del agua cm . . . . .	10	40	12	15	20	14	8	40
Permanencia del agua . . . . .	E.	E.	E.	E.	E.	E.	E.	E.
pH (laboratorio) . . . . .	8.9	10.0	9.4	8.4	8.3	9.3	9.0	9.7
Conductividad $\mu$ S/cm . . . . .	14.840	9.420	17.020	48.900	> 82.000	32.700	35.100	36.100
Residuo seco g/l . . . . .	12	8	15	83	125	38	55	41
Ca <sup>++</sup> mg/l . . . . .	960	696	956	320	960	800	880	1.080
Mg <sup>++</sup> mg/l . . . . .	559	440	673	11.664	13.244	3.353	7.144	4.155
Na <sup>+</sup> mg/l . . . . .	1.650	1.988	762	4.560	13.650	3.750	2.550	4.000
K <sup>+</sup> mg/l . . . . .	45	62	67	372	1.120	1.430	765	470
Cl <sup>-</sup> mg/l . . . . .	4.500	1.967	5.153	1.150	38.100	7.850	6.200	11.350
SO <sub>4</sub> <sup>=</sup> mg/l . . . . .	2.850	2.750	3.150	44.000	38.500	17.000	30.000	13.000
CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> mg/l . . . . .	11.6	34	16	261	126	75	102	68
CO <sub>3</sub> H <sup>-</sup> mg/l . . . . .	35.5	—	9.5	341	111	21.3	73	—
OH <sup>-</sup> mg/l . . . . .	—	0.7	—	—	—	—	—	9.8



densidad en las que entran a formar parte otros charofitos. Estos dan lugar a un cesped sumergido que cubre por completo los fondos de dichas lagunas (3, 4, 1, 10, 12).

Pese a la desaparición y alteración de numerosas áreas húmedas, el género *Ruppia* se encuentra en expansión en estas depresiones interiores, tanto en la región manchega como en otros enclaves salobres (salinas de Guadalajara, bodones de Valladolid y Segovia). La zoocoria (1, 12) y el incremento de salinidad de algunos enclaves (5) podrían explicar este hecho.

#### AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento al Dr. JOSÉ LONGAS por la realización de los análisis de aguas y a MONTSERRAT COMELLES su colaboración en la determinación de las especies de *Chara*. Agradecemos a los técnicos del Real Jardín Botánico de Madrid, MIGUEL JEREZ y ANTONIO MARTÍN su ayuda en los estudios de microscopia electrónica y recuentos cromosómicos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

CIRUJANO, S.

- 1980 Las Lagunas salobres y su vegetación I. *Anales Jard. Bot. Madrid* **37** (1): 155-192.

COMELLES, M.

- 1981 Contribució al coneixement de Les Carofícies d'Espanya. *Collect. Bot.* **12** (6): 97-103.  
1982 El Gènere *Tolypella* a Espanya. *Collect. Bot.* **13** (2): 777-781.

DAVIS, J. S. & P. B. TOMLINSON

- 1974 A new species of *Ruppia* in high salinity in Western Australia. *Journ. Arnold Arb.* **55**: 59-66.

DEL AGUILA, C. & C. ARNAIZ

- 1981 Datos florísticos de la Comarca de El Salobral (Toledo, España). *Lazaroa* **3**: 341-343.

FERNALD, M. L. & K. M. WIEGAND

- 1914 The genus *Ruppia* in Eastern North America. *Rhodora* **16**: 119-127.

GAMERRO, J. C.

- 1968 Observaciones sobre la biología floral y morfología de la Potamogetonácea *Ruppia cirrhosa* (Petag.) Grande (= *R. spiralis* L. ex Dum.). *Darwiniana* **14** (4): 575-608.

HAGSTRÖM, J. O.

- 1911 Three species of *Ruppia*. *Bot. Not.* **1911**: 137-144.



HUGUET DEL VILLAR, E.

- 1925 Avance geobotánico sobre la pretendida estepa central de España IV. *Iberica* 13 (580): 344-350.  
1937 Los suelos de la Península Luso-Ibérica. Madrid.

HUTCHINSON, J.

- 1959 *The families of flowering plants*. Clarendon Press. Oxford.

MARCHIONI, A.

- 1982 Indagine tassonomica ed ecologica in *Ruppia drepanensis* Tineo (*Ruppiaceae*). *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat.*, mem, Serie B 89: 153-163.  
1982 Numeri cromosomici per la Flora Italiana. *Inform. Bot. Ital.* 14: 234-237.

POSLUSZNY, V. & R. SATTLER

- 1974 Floral development of *Ruppia maritima* var. *maritima*. *Can. J. Bot.* 52: 1607-1612.

REESE, G.

- 1962 Zur intragenerischen taxonomie der Gattung *Ruppia* L. *Z. Bot.* 50 (3): 237-264.

REYES, E.

- 1915 Las estepas de España y su vegetación, Madrid.

RIVAS GODAY, S. & I. ASENSIO

- 1945 Suelo y sucesión en el Schoenetum nigricantis de Quero. Villacañas (Prov. Toledo). *Anal. Inst. Esp. Ecol. Fisiol. Veg.* 4: 148-184.  
1945 El suelo en la serie de sucesión lacustre. *Bol. Consejo G. Col. Farm.* 4 (39): 1-8.

ROZE, M. E.

- 1904 Recherches sur les *Ruppia*. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 41: 466-480.

SCHWANITZ, G.

- 1967 Untersuchungen zur postmeiotischen Mikrosporogenese. I. Morphogenese des *Ruppia* Pollen II. Vergleichende Analyse der Pollenentwicklung subund emers blühender Arten. *Pollen Spores* 9 (1): 9-48.

SETCHELL, W. A.

- 1946 The Genus *Ruppia*. *Proc. Calif. Acad. Sci.* 25 (18): 469-472.

SINGH, V.

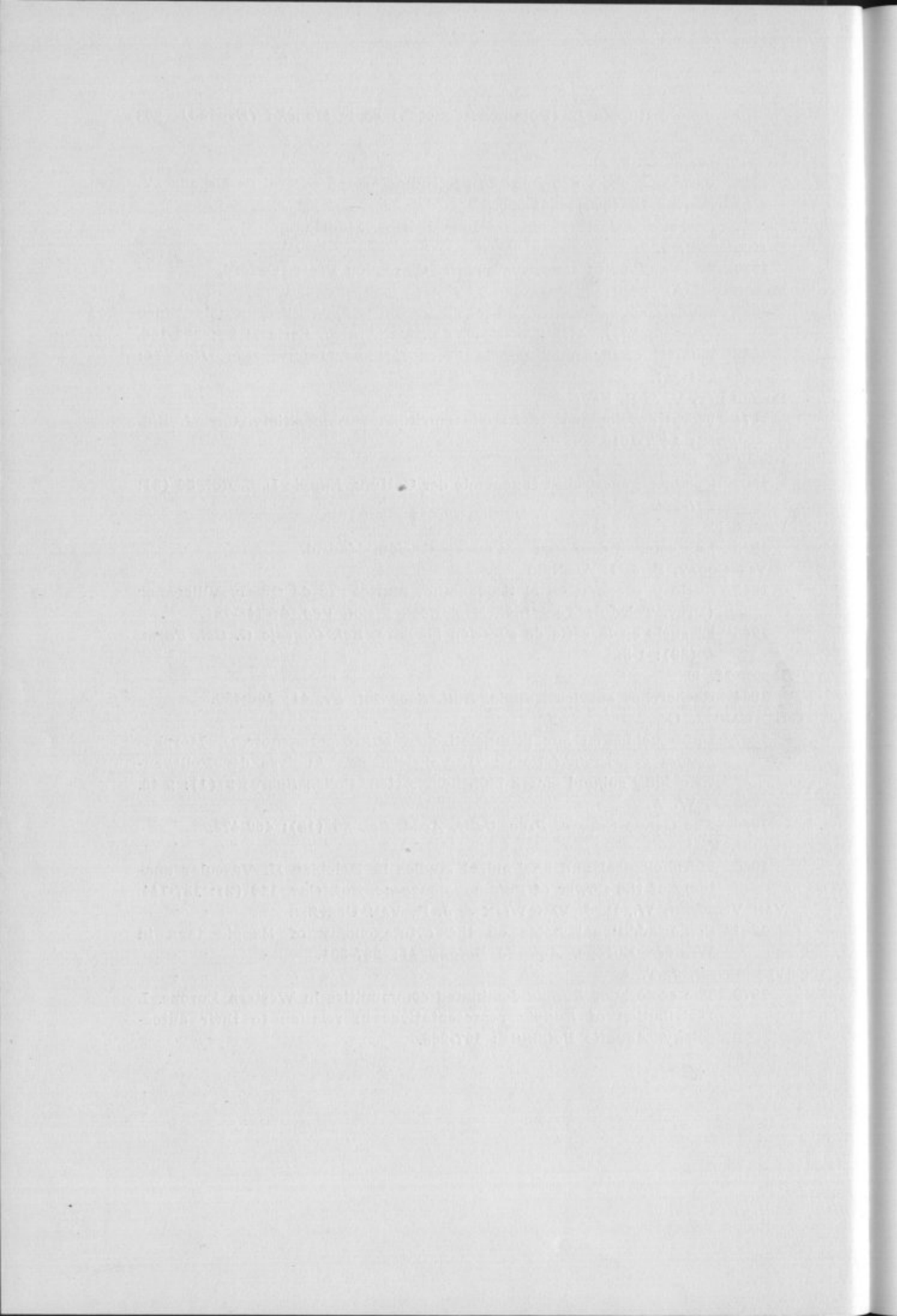
- 1965 Morphological and anatomical studies in Helobiae II. Vascular anatomy of the flower of *Potamogetonaceae*. *Bot. Gaz.* 126 (2): 137-144.

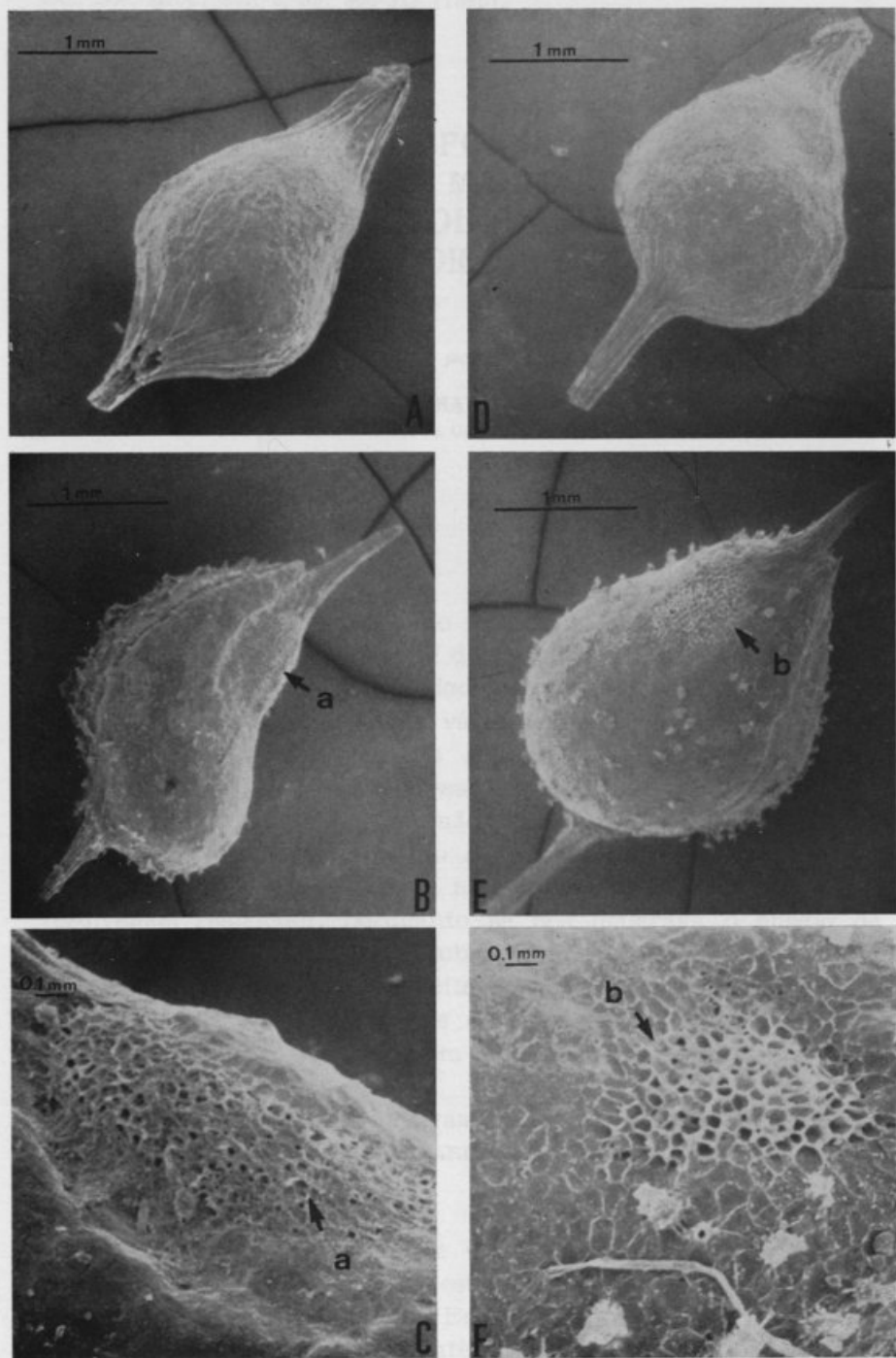
VAN VIERSEN, W., R. J. VAN WIJK & J. R. VAN DER ZEE

- 1981 Some additional notes on the cytotaxonomy of *Ruppia* taxa in Western Europe. *Aquatic Botany* 11: 297-301.

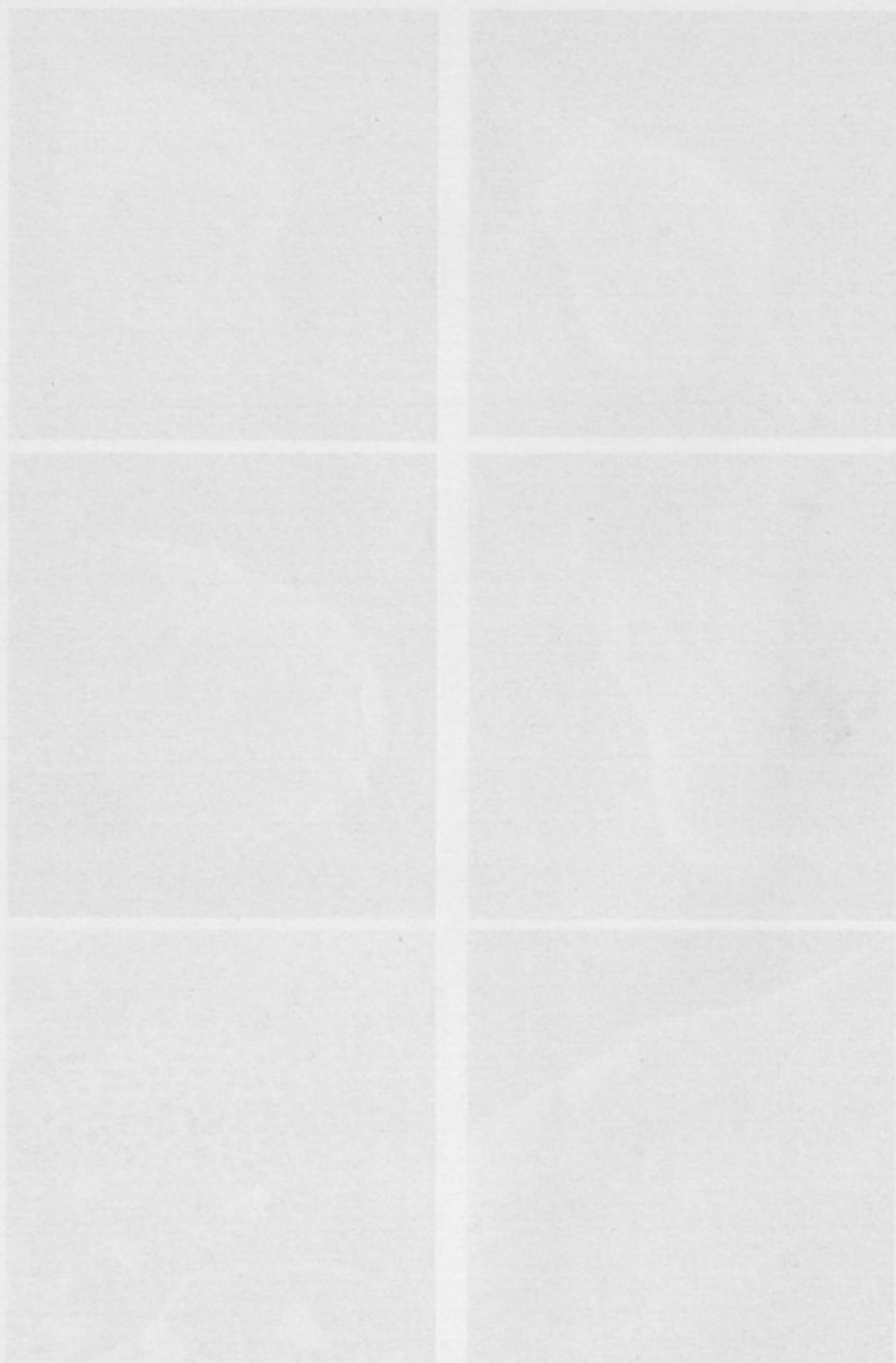
VERHOEVEN, J. T. A.

- 1979 The ecology of *Ruppia*-dominated communities in Western Europe. I. Distribution of *Ruppia* representatives in relation to their autecology. *Aquatic Botany* 6: 197-268.





Morfología de los frutos de *R. drepanensis* (A, B y C) y *R. maritima* var. *maritima* (D, E y F). A y D, aspecto general de los frutos. B y E, Endocarpos. C y F, detalle de las depresiones esponjosas situadas a ambos lados del rostro.



Histología de los testículos de *B. terrestris*. A, B, C y D: testículos en  
 diferentes etapas de desarrollo. A y B: testículos jóvenes de los lotes B y D. C y  
 D: testículos de los lotes A y B. E: detalle de las células germinales en un  
 tubo seminífero.

RESPOSTA  
À INVESTIGADORA MARGARIDA QUEIRÓS  
SOBRE O ESTUDO CARIOLÓGICO DAS *LAMIACEAE*  
DE PORTUGAL

por

A. FERNANDES & MARIA TERESA LEITÃO

Instituto Botânico da Universidade de Coimbra

Recebido em 25 de Setembro 1986.

A Investigadora auxiliar do Museu, Laboratório e Jardim Botânico da Universidade de Coimbra, MARGARIDA QUEIRÓS, publicou no *Boletim da Sociedade Broteriana* (vol. 58: 109-114, 1985) um artigo em que faz várias referências a um trabalho dado por nós à estampa nas *Memórias* da mesma Sociedade (vol. 27: 27-75, 1984). A nossa primeira reacção foi não dar qualquer resposta, a fim de não contribuirmos para que uma revista com os pergaminhos do *Boletim* tivesse que dar guarida a polémicas com que a Ciência nada beneficia. Pensando melhor, resolvemos responder, porquanto se nos deparava o ensejo de elucidar MARGARIDA QUEIRÓS sobre assuntos que parece ignorar e, por outro lado, sendo-nos feitas acusações, era absolutamente necessário que apresentássemos a nossa defesa, de modo a que os leitores do *Boletim* pudessem julgar depois de conhecidas as razões de ambas as partes.

Relativamente à primeira razão da nossa resposta, desejamos prestar à Investigadora MARGARIDA QUEIRÓS as seguintes informações:

1) A data da recepção de um artigo em qualquer revista científica serve somente para estabelecer a ordem pela qual os trabalhos devem ser publicados. Essa ordem, porém, não é taxativa, podendo ser alterada nos seguintes casos de força maior: necessi-

dade de a separata de um artigo ter de aparecer com uma data que lhe permita ser incluída em *curriculum* a apresentar para efeitos de prestação de provas em concurso ou promoção do autor do artigo; necessidade de um autor ter de publicar taxa novos, nomes novos ou combinações novas antes da saída de fascículos ou volumes de Floras que os incluam; necessidade de os Redactores ou Editores fazerem avançar a publicação da revista, quando os autores, pelo facto de demorarem muito tempo a revisão das provas, estarem prejudicando os colaboradores subsequentes; demora em os membros das Comissões Redactoriais fornecerem as suas decisões sobre a aceitação de artigos; etc. A data da recepção de um artigo na Redacção não tem, pois, nada a ver com a data da publicação, a qual será definida adiante.

2) Desde a sua fundação que é norma do *Boletim da Sociedade Broteriana* enviar provas (uma ou mais) aos autores, para que estes corrijam não só as gralhas tipográficas, mas também algum engano que tenham posteriormente detectado, façam alterações ou acréscimos no texto mediante a inclusão de pequenas notas, adendas, apêndices, etc. e actualizarem a bibliografia, particularmente nos casos em que a publicação for demorada.

3) Os Editores ou Redactores das revistas científicas não são revisores e não são, portanto, responsáveis pelas gralhas que os autores deixarem passar. Como, em regra, os autores são maus revisores dos seus próprios trabalhos, nada impede que recorram à ajuda de pessoas que considerem competentes (há, no entanto, revistas que têm os seus revisores próprios, o que não é o caso do *Boletim*).

4) O «Code International de la Nomenclature Botanique», no artigo 29 da sua edição de 1983, estabelece que «une publication n'est rendue effective que par la distribution d'imprimés (par vente, échange ou don) ou, du moins, la distribution d'imprimés à des institutions botaniques dont les bibliothèques sont accessibles aux botanistes en général». Além disso, no n.º 2 do art.º 30, estabelece que «Pour les tirés-à-part distribués à l'avance, la date de publication effective est celle qui y figure, à moins d'inexactitude démontrée».

5) As disposições mencionadas são seguidas não somente pelos taxonomistas, mas também pelos botânicos que trabalhem em qualquer outro ramo.

Prestadas estas informações<sup>1</sup>, passamos à nossa defesa, para a boa compreensão da qual necessitamos fazer um pouco da história de uma parte da investigação efectuada no Instituto Botânico de Coimbra a partir aproximadamente de 1965.

Logo que o Ministério da Educação Nacional lançou o Plano de Fomento da Acção Educativa, foi concedido ao Instituto Botânico um subsídio pelo Plano Intercalar do Fomento. Dispondo desse subsídio, A. FERNANDES, como Director do Instituto Botânico, pensou em levar a efeito, em colaboração com outros docentes e investigadores, uma série de estudos a que deu o título de «Contributions à la connaissance cytotaxinomique des *Spermatophyta* du Portugal», que tinha por objectivo não só a elaboração do *Atlas dos números de cromossomas das Espermatófitas de Portugal*, mas também, mediante os dados fornecidos pelo

<sup>1</sup> A leitura de alguns artigos recentes de QUEIRÓS mostrou-nos que, antes de começar a escrever, esta autora deveria documentar-se devidamente, a fim de não cometer erros tais como os que a seguir enumeramos: 1) empregar o termo *tigmonastia* (Actividade Cult. Jard. Bot. Univ. Coimbra, ed. Aut., pag. 4, 1982a e in Anu. Soc. Brot. 48: 56, 1982b) em lugar de *sismonastia*, vocábulo que deveria usar se tivesse conhecimento correcto dos dois tipos de fenómenos, aliás tão diferentes, a que esses dois termos se referem; 2) não distinguir cientificamente entre *identificação* (= *determinação*) e *classificação* de plantas (op. cit.: 5, 1982a e op. cit.: 59, 1982b); 3) identificação inexacata de plantas da flora de Portugal, o que pode conduzir a números de cromossomas errados (vide R. B. FERNANDES in *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 58: 235-248, 1985); 4) designar por *grassland* a formação em que se encontra integrada *Lavandula latifolia* Medicus na região de Almalaguês (vide A. PROENÇA DA CUNHA, MARGARIDA QUEIRÓS & ODETTE O. ROQUE in *Bol. Fac. Farm. Coimbra*, 6-8 (1/4): 28, 1984) e a que deveria, em bom vernáculo português, chamar *pinhal*; 5) não ter fornecido aos seus colaboradores químicos senão um único citótipo para resolver o problema que se tinha proposto, ou seja, averiguar a existência de possíveis diferenças químicas entre os citótipos de *L. latifolia*; 6) referir-se no seu artigo «*Nepenthes* essa estranha planta «sem cuidados» (in *Naturália*, N. S., 7: 15-16, 1986) a «ascídias *caliciformes*, semelhantes a estranhos jarros» (op. cit.: 15, col. 3); 7) atribuir os grânulos de cera à secreção de *glândulas* existentes na parede (op. cit.: 16, col. 1); 8) confundir a secreção nectarífera das glândulas das tépalas e do rebordo da ascídia com a das glândulas digestivas da 3.ª zona da ascídia, o que a leva a contradizer-se, quando, na coluna 1 da pág. 16, diz «Esta secreção é muitas vezes acompanhada de um odor sedição que atrai os pequenos insectos, em número mais ou menos elevado» e na coluna seguinte escreve «Como facto curioso é de notar que a água depositada no interior da ascídia, apesar do aspecto pouco convidativo que possa apresentar pela possível existência de insectos mortos, é potável, *sem mau cheiro*, o que permite admitir a exis-

estudo da morfologia externa, comparação dos cariótipos dos taxa estudados e pela distribuição geográfica dos mesmos, resolver problemas taxonómicos relativos à flora portuguesa, procurar esclarecer os processos evolutivos (diferenciação de espécies e de taxa infraspecíficos) nas diversas famílias e tentar estabelecer as relações filogenéticas dentro destas.

Nesta conformidade, A. FERNANDES convidou para trabalhar nesse Projecto J. BARROS NEVES (como independente), MARIA MARGARIDA MARINI ABREU VILAR DE QUEIRÓS, ISABEL MARIANA SIMÕES NOGUEIRA, MARIA DE FÁTIMA ALMEIDA SANTOS, MARIA VIRGÍNIA BOTELHO MORENO e MARIA TERESA PLANAS LEITÃO. Todos aceitaram, mas, por motivos particulares, ISABEL NOGUEIRA e MARIA VIRGÍNIA BOTELHO deixaram o Instituto Botânico para irem ocupar outros lugares. Tendo entrado depois para assistente MARIA CELESTE DOS SANTOS ALVES, foi esta incluída no Projecto e FILOMENA FRANÇA, bolsista da Fundação Gulbenkian, prestou também a sua colaboração durante algum tempo.

---

tência de substâncias antisépticas que evitam a putrefacção»; 9) não ter a noção do que é digestão, o que é bem posto em evidência pelo que se lê no citado artigo no início da coluna 2 da pág. 16: «Uma vez mortos no líquido (os insectos) são decompostos pelos fermentos proteolíticos, sendo de seguida digeridos»; 10) não fazer ideia de como se processa a nutrição azotada das plantas verdes ao escrever: «Hoje admite-se que este tipo de regime alimentar representa a compensação de uma deficiente alimentação em azoto, pela pobreza ou ausência deste elemento no meio em que vivem» (loc. cit.).

Por outro lado, existem imperfeições nos trabalhos mencionados, entre as quais apontamos: 1) tratando-se de um artigo de vulgarização (in *Naturália*, N. S., 7: 15, 1986), deveria explicar como é que as plantas de *Nepenthes* podem ascender por meio das folhas até cerca de 20 m de altura; 2) ser incompreensível quando diz (op. cit.: 16, 1.ª coluna) «armadilha passiva, característica importante para a respectiva classificação sistemática»; 3) chamar sépalas às peças de um perianto não diferenciado, que deveria denominar tépalas; 4) lançar a confusão no espírito do leitor quando escreve: «perianto em dois verticilos dímeros, com três a quatro sépalas» (op. cit.: 16, coluna 2); 5) o estilete nem sempre é obsoleto e o estigma nem sempre é discóide (op. cit.: 16, coluna 3); 6) deficiente revisão de provas, que, no artigo de *Naturália*, originou o percalço que se nota na pág. 16, coluna 1; 7) organização de listas bibliográficas que não obedecem ao preceito que sempre norteou e deve continuar a nortear os cientistas de *dar a César o que é de César...*



Após as diligências preliminares, A. FERNANDES convocou várias reuniões em que se procedeu à distribuição do estudo das famílias seguintes:

J. BARROS NEVES: *Ranunculaceae*, *Liliaceae* e *Araceae*.

A. FERNANDES & MARGARIDA QUEIRÓS: *Gramineae* e *Compositae*.

A. FERNANDES & M. FÁTIMA SANTOS: *Leguminosae* e *Scrophulariaceae*.

A. FERNANDES & M. TERESA LEITÃO: *Caryophyllaceae*, *Boraginaceae* e *Lamiaceae* (*Labiatae*).

A. FERNANDES & M. CELESTE ALVES: *Polygonaceae*, *Cyperaceae* e *Orchidaceae*.

A. FERNANDES, como Dirigente do Projecto, tomou sobre si os seguintes encargos:

1) Escrever uma introdução em que se referissem os objectivos da série de trabalhos que se ia iniciar, os materiais que se utilizariam e a maneira de os obter, as técnicas laboratoriais que seriam seguidas, as pesquisas bibliográficas que seria necessário efectuar, etc. Esta introdução foi publicada no *Boletim da Sociedade Broteriana* (2.<sup>a</sup> sér., 43: 3-19, 1969) para que todos os intervenientes tivessem acesso a ela.

2) Dirigir ele próprio explorações botânicas em todo o País, destinadas a colher sementes, plantas vivas, bolbos, rizomas e outros propágulos.

3) Dar instruções aos colectores quando ele não pudesse participar nas explorações, de modo a que o País fosse coberto por uma rede de colheitas abrangendo o Norte, o Centro e o Sul, bem como as regiões do litoral e do interior (estas colheitas foram prosseguidas até finais de 1974).

4) Solicitar das instituições portuguesas congêneres materiais colhidos pelos seus serviços em localidades devidamente assinaladas (cabe aqui referir o relevante auxílio que foi prestado pelos Institutos Botânicos de Lisboa e Porto, bem como pela Estação Agronómica Nacional).

5) Superintender na cultura de todas estas plantas nos viveiros do Jardim Botânico, coadjuvado pelo jardineiro-chefe JÚLIO DE MATOS, que tinha também a seu cargo distribuir pelos partici-

pantes as plantas dessecadas que tinham fornecido os materiais para estudos cariológicos, a fim de serem incluídas no Herbário.

6) Superintender na colheita e fixação de meristemas radiculares e outras partes das plantas para obtenção de preparações, coadjuvado pelo jardineiro-chefe e pelo preparador JOSÉ LUÍS FERREIRA CABRAL.

7) Superintender nos serviços laboratoriais até à obtenção das preparações, coadjuvado pelo preparador JOSÉ LUÍS FERREIRA CABRAL, que tinha também a seu cargo a distribuição das preparações executadas pelos investigadores, consoante as famílias que lhes tinham sido destinadas.

Os investigadores que colaboravam com A. FERNANDES tinham a seu cargo: a identificação rigorosa das plantas colhidas no estado espontâneo e que forneciam as sementes e outros propágulos; a identificação das plantas das culturas que forneciam os meristemas radiculares, anteras, etc. para estudo; observação das preparações, para efeito da determinação dos números de cromossomas, estabelecimento dos cariótipos e execução dos desenhos respectivos; coligir a bibliografia referente a cada um dos taxa e comunicar as faltas ao Dirigente; solicitar ao jardineiro-chefe os espécimes de herbário das plantas estudadas, aos quais se deviam juntar as preparações metidas em sacos de papel colados nas respectivas folhas de montagem, que seriam depois por eles arquivadas no Herbário Português do Instituto Botânico.

Os elementos relativos a cada trabalho (desenhos, bibliografia, etc.) eram entregues a A. FERNANDES, que procedia ao seu estudo. Em seguida, reunia-se com cada um dos colaboradores para efeito de verificação dos dados cariológicos, observação de preparações, discussão de pontos que lhe pareciam duvidosos, etc. Uma vez confirmados os dados, esclarecidos os pontos duvidosos, o que por vezes exigia a consulta de mais bibliografia, etc., A. FERNANDES procedia à redacção em francês dos trabalhos, os quais, uma vez dactilografados, eram submetidos aos colaboradores para efeitos de discussão. Uma vez estabelecido acordo em todos os pontos, eram as «Contributions» publicadas nas revistas da Sociedade Broteriana com as assinaturas do Dirigente e respectivos colaboradores científicos.

Entretanto, a parte do Plano Intercalar do Fomento referente ao Instituto Botânico, foi transformada no Projecto de Inves-

tigação Científica CB1 do Instituto de Alta Cultura, para o qual transitaram as «Contributions», integradas nos «Estudos morfológicos, citológicos, fisiológicos e genéticos na Célula Vegetal», continuando, portanto, nesse Projecto os estudos que estavam em curso.

Logo que foi anunciada a realização em Múrcia (Espanha), em Novembro de 1972, do XXX Congresso Luso-Espanhol para el Progreso de las Ciencias, A. FERNANDES comunicou a todos os intervenientes do Projecto CB1 quanto lhe seria grato que apresentassem comunicações nesse Congresso. No que respeita propriamente aos que trabalhavam com ele, A. FERNANDES convocou uma reunião na qual comunicou que, tendo sido designado para Director do Colóquio G «Citotaxonomia de Plantas Vasculares», do Congresso, seria conveniente que as comunicações fossem lidas pelos colaboradores e, como tal, figurassem em seus nomes os respectivos resumos. Tendo esta proposta sido aprovada, foi resolvido que fossem as seguintes as comunicações a apresentar:

MARIA CELESTE DOS SANTOS ALVES — Contribuição para o conhecimento citotaxonómico das *Polygonaceae* de Portugal.

MARIA TERESA LEITÃO — Contribuição para o conhecimento citotaxonómico das *Labiatae* de Portugal.

MARGARIDA QUEIRÓS — Sistemas genéticos em *Hedypnois* Scop. II. Reprodução em *H. rhagadioloides* (L.) W. Schmidt.

MARIA DE FÁTIMA SANTOS — Contribuição para o conhecimento citotaxonómico das *Leguminosae* de Portugal. II<sup>2</sup>.

Falou-se depois sobre o conteúdo de cada uma dessas comunicações, tendo A. FERNANDES, em face dos dados fornecidos, elaborado os respectivos resumos<sup>3</sup>.

<sup>2</sup> Infelizmente, das colaboradoras de A. FERNANDES, só MARIA CELESTE DOS SANTOS ALVES pôde assistir ao Congresso, motivo por que todas as outras comunicações foram apresentadas por ele.

<sup>3</sup> Quando, em princípios de 1980, se programaram as comemorações do Centenário da Sociedade Broteriana, agremiação de que A. FERNANDES ocupava a Presidência, foi resolvido levar a efeito um Simpósio sobre Botânica, para o qual se solicitou a colaboração dos botânicos portugueses e, em especial, a dos docentes e investigadores do Instituto Botânico de Coimbra. MARGARIDA QUEIRÓS foi convidada a ler uma comunicação sobre os

QUEIRÓS assistiu a esta reunião, tendo, portanto, conhecimento do estado avançado em que se encontrava o estudo da família das *Labiatae* (*Lamiaceae*), que estava sendo prosseguido por A. FERNANDES & M. T. LEITÃO. O resumo publicado na secção dos Colóquios do livro dos «Resúmenes» do Congresso (pag. 108) encontra-se reproduzido no Doc. n.º 1.

Infelizmente, este resumo é muito sucinto, não se referindo nele os nomes nem os números de cromossomas das 36 espécies já estudadas naquela data. Encontrou-se, porém, o original de um quadro-síntese intitulado *Números cromossómicos determinados em algumas Labiatae de Portugal*, onde são mencionadas as 36 espécies e se indica, para cada taxon, a duração de vida, o número de cromossomas somático, o grau de poliploidia e os números de cromossomas determinados por outros autores. Este quadro foi depois dactilografado, dele se tendo obtido diapositivos que foram projectados durante a apresentação da comunicação e é reproduzido no Doc. n.º 2. A análise deste quadro mostra que, dos taxa mencionados por QUEIRÓS no seu trabalho «Notas cariológicas em *Labiatae* portuguesas» (in Bol. Soc. Brot., Sér. 2, 56: 71-77, 1983), já tinham sido divulgados por nós em Novembro de 1972 os dados correspondentes a *Marrubium vulgare* L. ( $2n=34$ ),

---

trabalhos de carilogia publicados nas revistas da Sociedade Broteriana. Instada, terminou por aceder, depois de devidamente orientada sobre a maneira como deveria proceder para reunir os dados e o modo de os apresentar. Analisado o texto da comunicação, foi esta admitida, apresentada no Simpósio e depois publicada no *Boletim da Sociedade Broteriana* (vol. 54: 275-290, 1981).

Mais tarde, percorrendo o vol. 38 (1984) de *Webbia*, onde foram publicadas as comunicações apresentadas na 4.ª Reunião de OPTIMA, realizada em Palermo de 6-14 de Junho de 1983, deparou-se a A. FERNANDES, ocupando as págs. 805-818, a comunicação «Cytotaxonomie de quelques Spermatophyta du Portugal. Considérations générales», onde QUEIRÓS, baseada na comunicação apresentada no Simpósio do Centenário da Sociedade Broteriana, pretende, mediante a completa supressão do nome de A. FERNANDES do texto (como pode verificar-se, o nome de A. FERNANDES só figura na bibliografia, mas não é citado o artigo de introdução às «Contributions» a que fizemos já aqui referência na página 309) e o exclusivo emprego do pronome *nous* (1.ª pessoa do plural ou seja o *eu* dos escritores), apresentar-se como sendo a autora e condutora do Projecto «Contributions à la connaissance cytotaxinomique des *Spermatophyta* du Portugal». Sendo assim, A. FERNANDES foi obrigado a apresentar aqui a história um tanto pormenorizada do Projecto, a fim de repor a verdade dos factos. Nota de A. FERNANDES.

*Cleonia lusitanica* (L.) L. ( $2n = 20$ ), *Lavandula pedunculata* Cav. [*L. staechas* L. subsp. *pedunculata* (Miller) Sampaio ex Rozeira — nome usado por QUEIRÓS] ( $2n=30$ ), *L. latifolia* Medicus ( $2n=54$ ) e *Salvia verbenaca* L. ( $2n = 62$ ), faltando unicamente *Stachys ocymastrum* (L.) Briq., a que nos referiremos adiante<sup>4</sup>.

Após o Congresso de Múrcia, A. FERNANDES & M. T. LEITÃO trataram logo de redigir o trabalho para efeitos de publicação, o que é demonstrado pelo aparecimento do original, do qual se reproduz a fotogravura da primeira página (Doc. n.º 3).

O manuscrito estava pronto para ser enviado à tipografia em 1973, mas, tendo-se entretanto reunido mais materiais, foi resolvido ampliar o trabalho mediante o estudo de taxa ainda não examinados e a inclusão de plantas provenientes de outras localidades. Foi nessa data que se estudou *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. que não figurava na comunicação de Múrcia e é mencionado por QUEIRÓS no referido artigo. A existência de um espécime arquivado no herbário com o Det. de A. FERNANDES de 1973 (Doc. n.º 4) mostra que o estudo cariológico dessa espécie já tinha sido feito por nós nessa data, 8 a 9 anos antes de QUEIRÓS se ter ocupado dela.

Tendo surgido em 1975 dificuldades quanto ao funcionamento do Projecto CBI, o trabalho sobre as *Lamiaceae* (*Labiatae*) só seria retomado com intensidade em Outubro de 1979, após a criação, graças ao empenho do saudoso Prof. Dr. J. BARROS NEVES, do Centro de Fito-sistemática e Fito-ecologia do I. N. I. C. na Universidade de Coimbra, de cuja linha 2 — Cariologia — A. FERNANDES foi designado dirigente.

Tendo, em princípios de 1982, o trabalho adquirido uma dimensão satisfatória, quer pelo número de taxa, quer pelo de localidades, A. FERNANDES & M. T. LEITÃO resolveram apresentar nas XVIII Jornadas de Genética Luso-Espanholas, a realizar em Granada, uma comunicação intitulada «Contribuição para o conhecimento cariológico das *Lamiaceae* de Portugal», acompanhada de um *poster*, dando conta da nossa concepção sobre os mecanismos cromossómicos que têm actuado na evolução

<sup>4</sup> É evidente que nós, ao mencionarmos aqui o resumo e o quadro, não vimos reclamar qualquer prioridade, que sabemos muito bem que não temos, pois não houve qualquer publicação efectiva ao mencionarmos somente os nomes das espécies e os números de cromossomas numa das sessões do Congresso.

da família, *poster* que serviu de base a uma comunicação por nós apresentada em 14 de Outubro de 1982 à Academia das Ciências de Lisboa.

A. FERNANDES tomou conhecimento do já aludido artigo «Notas cariológicas em *Labiatae* portuguesas», da autoria de MARGARIDA QUEIRÓS, em 9 de Março de 1982, quando, como redactor do *Boletim da Sociedade Broteriana*, teve de o ler, a fim de se pronunciar sobre a sua aceitação na revista. Apesar de profundamente chocado com a quebra da ética que sempre tinha reinado no Instituto Botânico de Coimbra, quebra que representava a intromissão, sem qualquer advertência prévia, de um investigador no trabalho de outros, utilizando para o efeito materiais que estavam sendo utilizados pelos últimos<sup>5</sup>, A. FERNANDES não deixou de lhe dar voto favorável na sua aceitação.

De harmonia com o que tinham resolvido no começo de 1982, A. FERNANDES & M. T. LEITÃO inscreveram-se nas XVIII Jornadas de Genética Luso-Espanholas e algum tempo antes da sua realização enviaram para a respectiva Secretaria o resumo da sua comunicação. Este Resumo, reproduzido por QUEIRÓS no seu

---

<sup>5</sup> Na secção II do seu trabalho «Material e métodos», QUEIRÓS pretende mostrar que todo o trabalho é obra sua, escolhendo plantas de alguns taxa colhidas em localidades que pensava não terem sido ainda estudadas por nós e referindo que os «vértices vegetativos foram submetidos a um pré-tratamento com colchicina 0,05 % durante cerca de 2 horas, a fim de se encurtarem os cromossomas». Ora os factos mostram o seguinte:

1) Todos os materiais dos taxa mencionados por QUEIRÓS foram colhidos, segundo os respectivos registos de campo, em 1972, data em que os trabalhos de colheita e fixação estavam, como dissemos, sob a superintendência de A. FERNANDES. *Stachys ocymastrum* da Estação Velha, *Cleonia lusitanica* de Eiras, *Lavandula pedunculata* de Penacova e *Lavandula latifolia* de Rio de Galinhas, já tinham sido estudados por nós. Somente *Marrubium vulgare* de Oeiras e *Salvia verbenaca* do Cabo Espichel o não tinham sido ainda, em virtude de, por motivos que ignoramos, nos não terem sido entregues as respectivas preparações.

2) Os meristemas radiculares não foram submetidos a qualquer tratamento pela colchicina como afirma QUEIRÓS, o que é bem posto em evidência não só pelo que se diz no número anterior (em 1972 os trabalhos referentes à fixação eram dirigidos por A. FERNANDES, que não deu nenhuma ordem para que se efectuasse qualquer pré-tratamento), mas também pelo facto de as figuras apresentadas por QUEIRÓS não possuírem qualquer característica que revele terem os cromossomas sofrido a acção da colchicina.

artigo «A propósito de «Notas cariológicas em *Labiatae* portuguesas» (in Bol. Soc. Brot., Sér. 2, 58: 109-114, 1985, onde pode ser lido) foi publicado na secção de «Programa y Resúmenes» das comunicações e nele se mencionam os nomes dos 58 taxa de *Lamiaceae* (*Labiatae*) da flora de Portugal, bem como os números de cromossomas somáticos por nós determinados. As Jornadas tiveram lugar em Granada de 21 a 23 de Setembro de 1982 e durante elas a brochura contendo os Resumos das comunicações foi distribuída pelos participantes, tendo um exemplar dado entrada na Biblioteca do Instituto Botânico em 30 de Setembro de 1982. A data de publicação do Resumo de A. FERNANDES & M. T. LEITÃO é, pois, 21 de Setembro de 1982, podendo considerar-se para Portugal 30 de Setembro do mesmo ano.

O artigo de QUEIRÓS «Notas cariológicas em *Labiatae* portuguesas», já aqui referido na pág. 312, só foi efectivamente publicado em 13.1.1984, data em que o vol. 56 do *Boletim* deu entrada na Biblioteca do Instituto Botânico de Coimbra<sup>6</sup>. Deste modo e como já vimos que a data de recepção dos artigos nas Redacções não corresponde de modo algum à data de publicação, QUEIRÓS não tem motivos para reclamar qualquer prioridade, tendo mesmo, no caso de desejar obedecer ao preceito de *dar a César o que é de César*, de citar no seu trabalho de 1983 o Resumo de A. FERNANDES & M. T. LEITÃO, para o que poderia aproveitar o ensejo que teve de actualizar a bibliografia durante a revisão das provas.

Em fins de Setembro de 1982, A. FERNANDES & M. T. LEITÃO entregaram o manuscrito do seu trabalho «Contribution à l'étude cytotaxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. XVIII — *Lamiaceae*» para ser publicado no vol. 56 do *Boletim*, que correspondia ao ano de 1983. Infelizmente, como se disse, a situação financeira da Sociedade era difícil, motivo pelo qual se resolveu publicar o referido artigo no vol. 27 (pág. 27-75), das *Memórias*, que saiu com a data de 1984. No seu artigo «A propósito de Notas cariológicas em *Labiatae* portuguesas» (op. cit., 1985), QUEIRÓS faz algumas referências a esse trabalho, às quais passamos a responder:

<sup>6</sup> Como Redactor do *Boletim*, A. FERNANDES não teve qualquer responsabilidade na demora da publicação do vol. 56, a qual resultou única e exclusivamente da falta de fundos com que a Sociedade Broteriana lutou para publicar esse volume (deverá acentuar-se que A. FERNANDES não tinha nessa data qualquer encargo administrativo na Sociedade), o qual teve de ficar reduzido a 135 páginas. Nota de A. FERNANDES.

1) Diz que ficou surpreendida por A. FERNANDES & M. T. LEITÃO tecerem considerações *do jaez*<sup>7</sup> daquela que transcreve (op. cit.: 111). Ora deveremos acentuar que essa consideração até se encontra muito *bem ajaezada*, porquanto esses autores escrevem «Il semble que QUEIRÓS», etc. (ver a transcrição no artigo desta autora, loc. cit.), quando na realidade deveriam responder unicamente que QUEIRÓS hesitou entre os números 54 e 50. Esta hesitação não é de admirar, dado o pequeno tamanho e o número elevado de cromossomas, bem como a tendência que possuem para se aglutinar uns com os outros. Nós, que temos alguma prática em lidar com os cromossomas de *Lavandula latifolia*, não nos envergonhamos de confessar que temos hesitado muitas vezes em decidir entre 48 e 50 e entre 50 e 54. No entanto, a explicação dada por QUEIRÓS, atribuindo a duas gralhas, uma no Résumé e outra no Abstract (partes tão importantes de qualquer trabalho), o aparecimento do número 54 em lugar de 50 não pode ser considerada satisfatória, porquanto não é crível admitir que duas gralhas sucessivas tão fáceis de detectar — confusão entre algarismos tão diferentes como são o zero e o quatro — não fossem notadas pela autora<sup>8</sup>.

<sup>7</sup> O sublinhado é nosso.

<sup>8</sup> A crítica de QUEIRÓS contida no n.º 1º da pag. 111 diz unicamente respeito ao redactor do *Boletim* A. FERNANDES e com ela não tem nada a ver M. T. LEITÃO. A resposta dada na presente nota é, pois, da exclusiva responsabilidade de A. FERNANDES.

Em primeiro lugar, deverá notar-se que essa crítica nem parece ter sido escrita por uma cientista que já publicou vários artigos no *Boletim* assinados unicamente com o seu nome e que deveria conhecer, portanto, os princípios que norteiam a Redacção da revista.

É evidente que os dois Redactores tinham um conhecimento *confidencial* das matérias contidas no artigo de QUEIRÓS, as quais, *como confidentiais*, não poderiam ser reveladas, embora não trouxessem nada de novo para a Ciência. Se não podiam ser reveladas, muito menos poderiam ser publicadas por eles, tanto mais que o artigo ainda teria de ser revisto pela autora e esta poderia introduzir as alterações que a revisão lhe permitisse (deverá notar-se que em Setembro de 1982, por falta de verba, a composição do vol. 56 de *Boletim*, que só daria entrada na Biblioteca do Instituto em 13.1.1984, estava ainda muito longe de poder ser iniciada). QUEIRÓS deveria saber que só o *próprio autor* (ou autores no caso de artigos em colaboração) *pode publicar por antecipação* a outro ou outros trabalhos que já foram entregues para publicação ou se encontram ainda em elaboração, resultados já obtidos que estejam na sequência do que está para ser publicado. Pensar que um Redactor de



2) J. G. GARCIA trabalhou no Instituto Botânico de Coimbra como assistente e como naturalista e mais tarde como investigador no Centro de Botânica da Junta de Investigações do Ultramar. Pessoa excepcionalmente inteligente, foi também um investigador honesto, consciencioso, perspicaz e muito bom observador, tendo nas suas pesquisas cariológicas usado técnicas comparáveis às actuais. O número de cromossomas  $2n = 54$  por ele contado em *Lavandula latifolia* foi confirmado por NATARAJAN e por A. FERNANDES & M. T. LEITÃO. Não podemos, portanto, deixar de estranhar o procedimento de QUEIRÓS (pág. 113) ao minimizar o trabalho desse investigador ao aludir à *anódina* referência a GARCIA feita por nós.

Esperávamos que, após o nosso reparo às suas hesitações entre 50 e 54 cromossomas em *L. latifolia*, QUEIRÓS viesse agora mostrar, mediante o estudo de algumas centenas de plantas, que os números  $2n = 36, 54$  e  $75$  por nós determinados e referidos no nosso trabalho publicado nas *Memórias* (loc. cit.) não existiam e que a espécie era constituída somente por indivíduos com 50 cromossomas. Afinal, aguardava-nos uma grande decepção, pois que nesse trabalho de 1985 não encontrámos senão a reprodução da figura publicada no vol. do *Boletim* de 1983, podendo, assim, tirar-se a conclusão de que QUEIRÓS só estudou um indivíduo!...

3) Quem percorrer os trabalhos de carilogia de que QUEIRÓS é única autora, verifica quão importantes são para ela as citações bibliográficas, que são em regra referidas mesmo até à exaustão, quando poderia simplificar, como lhe foi ensinado, remetendo muitas delas para os Índices dos Números de Cromossomas de onde ela as extrai. O mesmo, porém, não acontece quando se trata de referir os resultados obtidos pelo menos por alguns investigadores que trabalham no Instituto Botânico de Coimbra. Pensando

---

uma revista científica poderia proceder da maneira indicada por QUEIRÓS é verdadeiramente inconcebível.

Como os outros botânicos, A. FERNANDES só tomou conhecimento efectivo do artigo de QUEIRÓS em 13.1.1984, porquanto ele não existia até essa data. Deste modo, contrariamente às afirmações de QUEIRÓS, não há qualquer inversão de «ónus», havendo, muito simplesmente, o facto de que o Resumo de FERNANDES & LEITÃO tem a data de publicação de Setembro de 1982 e o artigo de QUEIRÓS a de Janeiro de 1984, havendo, assim, manifesta prioridade do primeiro sobre o segundo, em virtude de ter sido publicado aproximadamente um ano e três meses antes. Nota de A. FERNANDES.

que a data da recepção dos seus artigos nas Redacções das revistas correspondia à data da sua publicação efectiva<sup>9</sup>, considerava que os seus artigos inéditos é que tinham prioridade sobre os outros já publicados (caso do nosso Resumo de 1982 e do seu artigo de 1983 já referido).

No seu artigo «Números cromossómicos para a flora portuguesa. 80-103», recebido para publicação em 15 de Novembro de 1984 e publicado no vol. 58 (pág. 85-96, 1985), QUEIRÓS não cita o trabalho de A. FERNANDES & M. T. LEITÃO «Contribution à l'étude cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. XVIII—*Lamiaceae*», dado à estampa no vol. 27 (págs. 27-75, 1984) das *Memórias da Sociedade Broteriana*, embora ele tenha dado entrada na Biblioteca do Instituto Botânico de Coimbra em 4.X.1984, antes, portanto, da data da recepção do artigo de QUEIRÓS na Redacção do *Boletim* e cerca de um ano antes da publicação do desta autora. Os taxa para os quais essa referência bibliográfica não foi feita são os seguintes: *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link, *Micromeria juliana* (L.) Benth. ex Reichenb. e *Nepeta tuberosa* L. subsp. *tuberosa*, embora cite o Resumo de 1982.

Se QUEIRÓS, por qualquer motivo, não quiser citar os trabalhos de A. FERNANDES & M. T. LEITÃO, não há regra alguma que a isso a obrigue, a não ser as disposições que a ética científica impõe. Mas se assim proceder, os autores cuja prioridade sobre os seus trabalhos for comprovada, como é o nosso caso, têm todo o direito de lhe chamar a atenção para esse facto. Foi simplesmente o que fizemos para os casos referidos na última página do artigo de QUEIRÓS e que não vale a pena esmiuçar aqui.

Esperamos que QUEIRÓS tenha aprendido alguma coisa com a leitura desta nossa resposta. Queremos, no entanto, deixar aqui bem vincado que não mais voltaremos a responder a qualquer artigo *do jaez* daquele a que o *Boletim* deu guarida nas suas páginas do volume 58 (1985).

---

<sup>9</sup> Esta sua ideia persistia ainda, quando, na Assembleia Geral Ordinária da Sociedade Broteriana de Janeiro de 1985, QUEIRÓS propôs que, daí para o futuro, fosse mencionada a data da recepção na Redacção de todos os artigos a publicar nas revistas da Sociedade.

No entanto, conhecemos quanto as controvérsias podem contribuir para o esclarecimento dos problemas científicos. No caso, portanto, de surgir qualquer artigo de QUEIRÓS *verdadeiramente científico* dentro do nosso campo de investigação, não deixaremos de dar o nosso parecer, quer para mostrar a nossa concordância se ela existir, quer para expor as razões que nos assistem se as nossas opiniões divergirem.

*Flora del valle de los rios ultramarinos en Estre-  
madura*, por M. Ladero Alvarez.

Se refiere al comportamiento ecologica y fitosociologica de taxones que se desarrollan sobre rocas ultramarinas en Extremadura. Consideramos las relaciones existentes entre la flora de ciertos enclaves extremos, incluso con la de las situaciones adyacentes del Portugal septentrional y medio. Finalmente son señaladas las posibles áreas florísticas, ecológicas y fitogeográficas que usan a estas regiones y al Cabo de Gata.

(Esta Exposición de la Compaginación sería afiliana de las exposiciones I y II.)

### Vol. 2.º

*Contribuição para o conhecimento etnobotânico das  
Lamelas de Portugal*, por Maria Teresa Leão  
(Química Biológica da Universidade de Coimbra).

Determinamos o número de cromossomas somáticos de 23 espécies de Lamelas do Mar de Portugal, das quais 19 são referidas pela primeira vez. Das espécies examinadas 8 eram diploides e 24 poliploides. Verificamos ainda que a poliploidia é muito elevada nesta família. Apresentamos alguns casos de evolução por aneuploidia (Tetrasporum, Leptodermum, Tetrasporum e Leptodermum) e alguns casos de autopoliploidia. O número de espécies estudadas foi muito pequeno para nos ser possível tirar conclusões de natureza taxonómica.

... e a possibilidade de se estabelecerem relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas. No caso de se estabelecerem relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas, é necessário que se estabeleçam relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas.

No entanto, a possibilidade de se estabelecerem relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas, é necessário que se estabeleçam relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas. É necessário que se estabeleçam relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas. É necessário que se estabeleçam relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas.

Se quisermos, por qualquer motivo, não nos conformarmos com a situação atual, é necessário que se estabeleçam relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas. É necessário que se estabeleçam relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas. É necessário que se estabeleçam relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas.

Esperamos que este trabalho tenha sido útil para os leitores e que possam encontrar nele algumas ideias que possam ser aproveitadas para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas. É necessário que se estabeleçam relações de cooperação entre os diversos setores da sociedade civil, para o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas.

\* Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) através do projeto de pesquisa "Estudo sobre o desenvolvimento das atividades culturais, científicas e tecnológicas".

cromosómica de siete especies españolas de este género, así como el comportamiento de los cromosomas en la división reductiva.

Se comentan las posibles correlaciones existentes entre la «ploidia» y el comportamiento ecológico y corológico de estos táxones.

Considerando el conjunto de datos obtenidos de estos estudios cariológicos se discute sobre la variabilidad numérica de los cromosomas y sobre la presencia de euploides y aneuploides entre los táxones estudiados.

*Plantas que crecen sobre rocas ultrabásicas en Extremadura*, por M. Ladero Alvarez.

Se estudia el comportamiento ecológico y fitosociológico de taxones que se desarrollan sobre rocas ultrabásicas en Extremadura. Comentamos las relaciones existentes entre la flora de ciertos enclaves extremeños con la de las intercalaciones ultrabásicas del Portugal septentrional y medio. Finalmente son señalados los posibles lazos florísticos, ecológicos y sin-taxonómicos que unen a estas regiones y al Cabo de Gata.

(Para Exposición de la Comunicación serán utilizadas diapositivas 5 x 5.)

### Doc. n.º 1

*Contribuição para o conhecimento citotaxonomico das Labiatae de Portugal*, por Maria Teresa Leitão (Instituto Botânico da Universidade de Coimbra).

Determinou-se o número de cromossomas somático de 36 espécies de *Labiatae* da flora de Portugal, das quais 10 são referidos pela primeira vez. Das espécies examinadas 8 eram diploides e 28 poliploides. Verificou-se, assim, que a poliploidia é muito elevada nesta família. Apontam-se alguns casos de evolução por anfiploidia (*Teucrium*, *Lavandula*, *Thymus* e *Salvia*), por vezes seguida de antopoliploidia. O número de espécies estudadas foi muito pequeno para que se possam tirar conclusões de natureza taxonómica.

cromosomas de siete especies españolas de este grupo, así como el comportamiento de los cromosomas en la división reduccional. Se comentan las posibles correlaciones existentes entre la eploidía y el comportamiento ecológico y taxonómico de estas táxones. Considerando el conjunto de datos obtenidos de estos estudios citológicos se discute sobre la variabilidad numérica de los cromosomas y sobre la presencia de eploidías y aneuploidías entre los táxones estudiados.

Plantes voor trecken naar voor afkomstigen in Eritree, mededeeling van M. L. de Vries.

Se estudia el comportamiento ecológico y filogenético de táxones que se desarrollan sobre rocas ultrabásicas en Extremadura. Comentamos las relaciones existentes entre la flora de ciertos endemismos ultrabásicos con la de las intercalaciones ultrabásicas del Portugal septentrional y medio. Finalmente son señalados los posibles rasgos filológicos, ecológicos y taxonómicos que unen a estas regiones y al Cabo de Gata.

Para Exposición de la Comunicación están utilizadas las fotografías 5 y 6.

Doc. No. 1

Contribuição para o conhecimento citogenético das plantas de Portugal, por Maria Teresa Leitão (Instituto Botânico da Universidade de Coimbra).

Determinamos o número de cromosomas somáticos de 30 espécies de plantas de Portugal, das quais 10 são terrestres pelo primeiro vez. Das espécies examinadas 8 eram diploides e 22 poliploides. Verificamos assim que a poliploidia é muito elevada nesta família. Apontamos alguns casos de evolução por aneuploidia (Triticum, Lactuca, Triticum e Zea), por vezes seguida de autopoliploidia. O número de espécies estudadas foi muito pequeno para que se possam tirar conclusões de natureza taxonómica.







	Annual Revised	Virag	2u	2x	4x	5x	8x	8x+	<u>2</u>
13 <i>T. martichina</i> L.		+	60						
			64						5-6
14 <i>T. serpyllum</i>		+	28		+				24, 5-6
15 <i>T. caespitosus</i> Bert.		+	30		+				30
16 <i>T. camphoratus</i> Hoffg. et Link		+	30		+				N
Cnidobryum, x = 15									
17 <i>C. capitatus</i> (L.) Richt. f.		+	30		+				N
<u>Laturejinae (Mehinae)</u>									
Mehina, x = 8									
18 <i>M. officinalis</i> L.		+	32						32
Latureja, x = 5, 6, 9									
19 <i>L. juliana</i> L.		+	30						N
20 <i>L. calamitula</i> (L.) Schrad					+				N
subsp. montana (Hoffg. et Link) P. Cont. var.									
21 <i>L. dingyodum</i> (L.) <del>Cont.</del>		+	24		+				N
<u>Maroubiinae</u>									
Maroubium, x = 17									
22 <i>M. vulgare</i> L.		+	34		+				34, 36?
<del><i>L. dentata</i>, x =</del>									
<del><i>L. sp.</i></del>			30						
<u>Nepeteae</u>									
Nepeta, x = 9, 17									
23 <i>N. tuberosa</i> L.		+	18	+					N
<u>Stachyaeae</u>									
<u>Lamiinae</u>									
Ballota, x = 11									
<i>B. nigra</i> L.		+	22	+					22
24 <i>L. talya</i> , x = 5, 8, 9									
25 <i>L. officinalis</i> (L.) Trev.		+	16	+					16
<i>L. germanica</i> L.	+	+	30		+				30

Year	Month	Day	Time	Location	Notes
1900	12	30	+		2 specimens
1900	12	26	+		2 specimens
1900	12	24	+		2 specimens
1900	12	23	+		2 specimens
1900	12	22	+		2 specimens
1900	12	21	+		2 specimens
1900	12	20	+		2 specimens
1900	12	19	+		2 specimens
1900	12	18	+		2 specimens
1900	12	17	+		2 specimens
1900	12	16	+		2 specimens
1900	12	15	+		2 specimens
1900	12	14	+		2 specimens
1900	12	13	+		2 specimens
1900	12	12	+		2 specimens
1900	12	11	+		2 specimens
1900	12	10	+		2 specimens
1900	12	9	+		2 specimens
1900	12	8	+		2 specimens
1900	12	7	+		2 specimens
1900	12	6	+		2 specimens
1900	12	5	+		2 specimens
1900	12	4	+		2 specimens
1900	12	3	+		2 specimens
1900	12	2	+		2 specimens
1900	12	1	+		2 specimens

1900  
 12  
 30  
 26  
 24  
 23  
 22  
 21  
 20  
 19  
 18  
 17  
 16  
 15  
 14  
 13  
 12  
 11  
 10  
 9  
 8  
 7  
 6  
 5  
 4  
 3  
 2  
 1

	Annual or Biennial	1x	2x	3x	4x	6x	8x
<del><i>S. alpinensis</i> ?</del>			18				
27 <i>S. hirta</i> L.	+		18	+			18
<i>Lamium</i> , x = 9							
28 <i>S. maculatum</i> L.		+	18	+			18
29 <i>S. simplex</i> L.	+		18	+			18
<u>Prunellinae</u>							
<i>Prunella</i> , x = 7							
30 <i>S. vulgaris</i> L.		+	28		+		28
<i>Cleome</i> , x = 10							
31 <i>C. lutea</i> L.	+		20	+			20
<u>Salvicae</u>							
<i>Salvia</i> , x = 11, 13, 15, 17, 19							
32 <i>S. sclarea</i> L.	+		20		+		N
33 <i>S. verbenaca</i> L.	+		62				42, 54, 59, 64, <sup>65, 81</sup>
34 <i>S. claudia</i> L.	+		65?				N
<u>Scutellarionidae</u>							
<i>Scutellaria</i> , x = 7, 8, 11, 17							
35 <i>S. galericulata</i> L.	+		30		+		30, 31, 32
36 <i>S. minor</i> L.	+		28		+		N



Doc-n°3  
Contribution à l'étude cytotaxinomique  
des Spermatophyta du Portugal  
IX - Labiatae\*

par  
A. Fernandes & Maria Teresa Leitão  
Instituto Botânico de l'Université de Coimbra  
Introduction

Dans le but de poursuivre l'élaboration du Atlas  
des nombres chromosomiques des Spermatophyta de  
la flore du Portugal, nous présentons ici les ré-  
sultats des études accomplies jusqu'à présent chez  
la famille des Labiatae.

Sur ce qui concerne les matériaux et les techniques  
et, ainsi que quant à la disposition des maté-  
riels, voir les numéros antérieurs de cette série  
publiés dans ce journal.

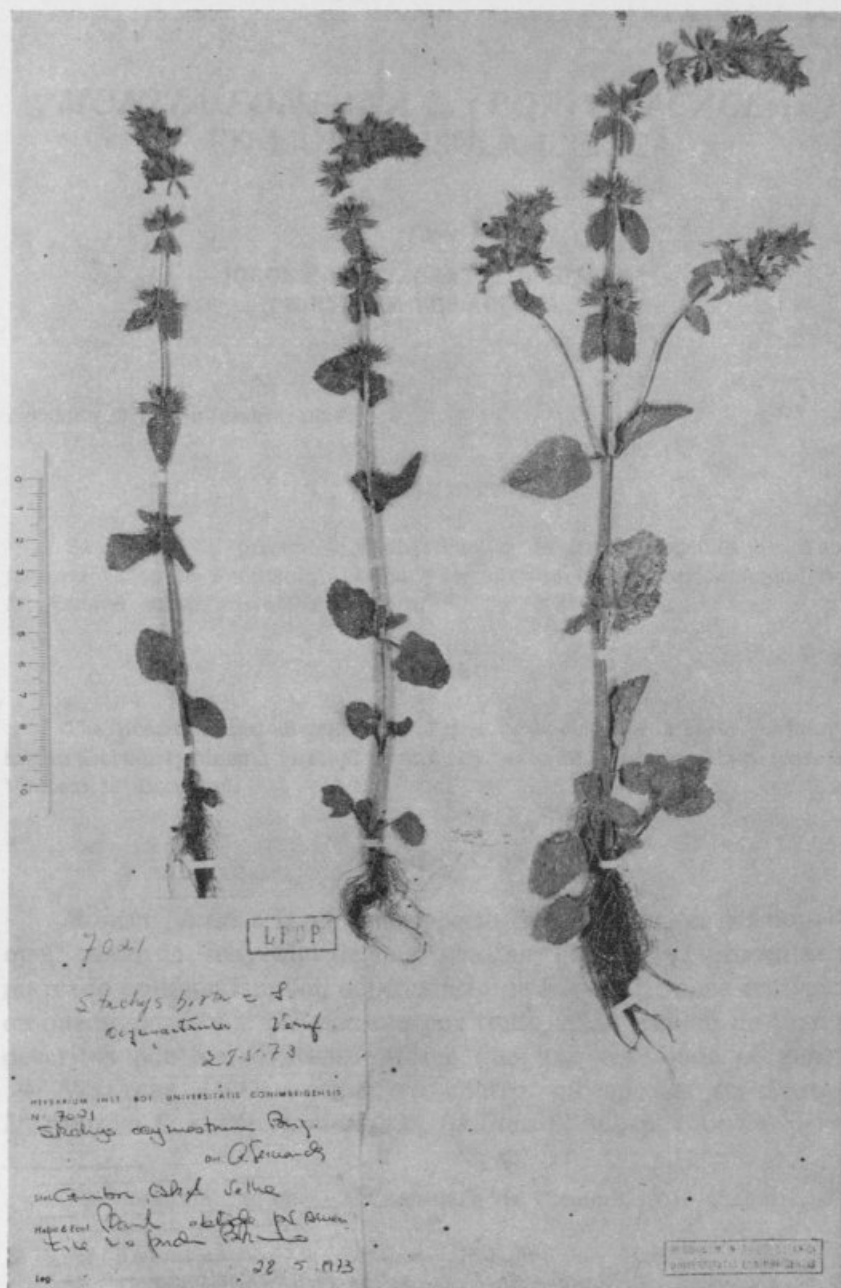
Les plaques métaphasiques sont ~~en~~ toutes re-  
produites à un grossissement d'à peu près 3000.

Dans le chapitre des observations et dans le tableau I, les  
sous-familles, tribus, sous-tribus et genres sont rangés d'après  
la classification de Melchior (in Engl., Bot. Jahrb. 1963, 83, 1-100)  
(voir int. memo.)

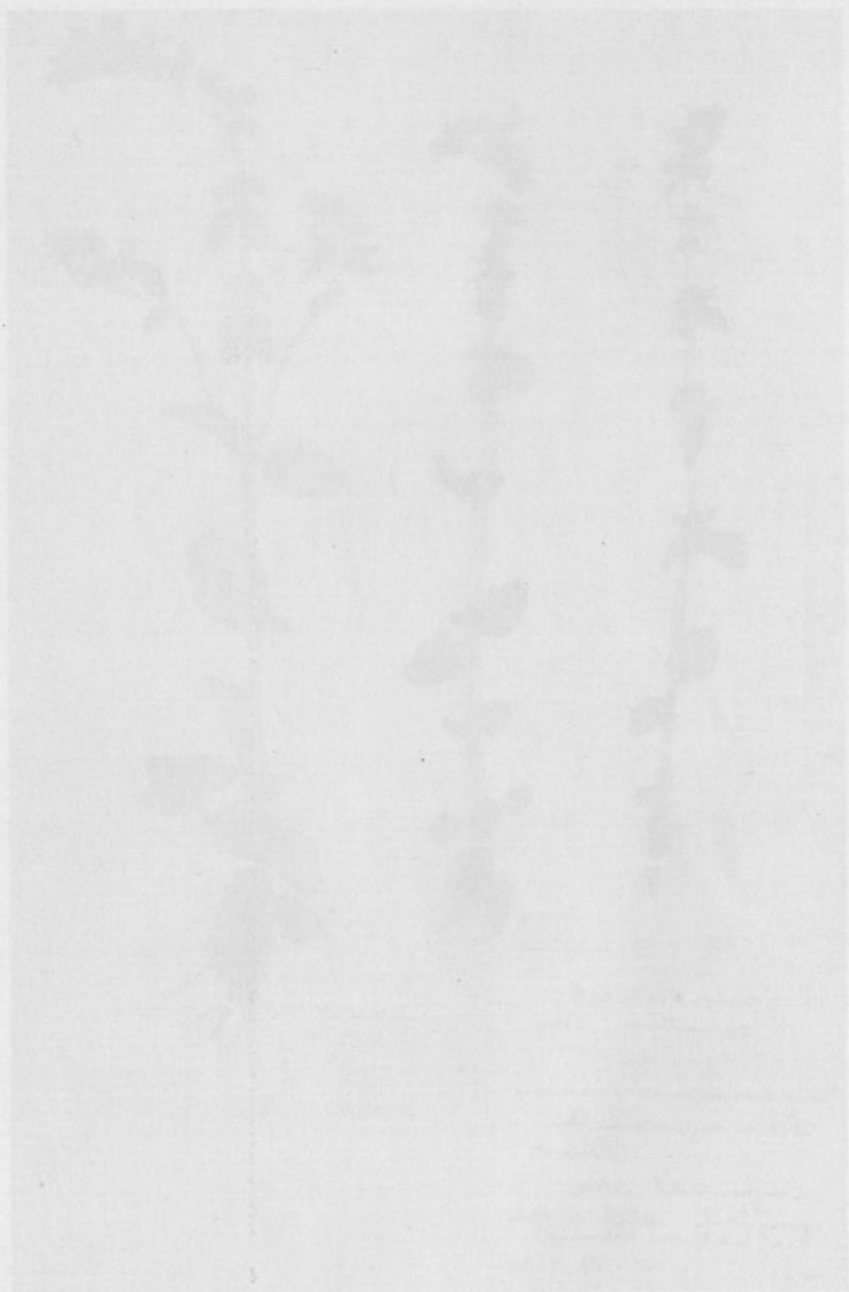
\* Traducido e adaptado d'após de

Trabalho publicado através do Projecto de Investigações  
C 151 do Instituto de Alta Cultura.





Real Jard. Bot. C. S. I. C. Plaza de Murillo, 2. 28014 Madrid, España.





## MONTIA FONTANA L. (PORTULACACEAE) EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

por

JORGE PAIVA \*, SANTOS CIRUJANO \*\*  
& ESTHER VILLANUEVA \*\*\*

Recibido el 8 Septiembre 1986.

### RESUMEN

Se estudia la presencia y distribución de las subespecies de *Montia fontana* L. en la Península Ibérica y se discute la entidad taxonómica de *M. fontana* subsp. *variabilis* Walters.

### ABSTRACT

The presence and distribution of the subspecies of *Montia fontana* L. in the Iberian Peninsula is studied, and the taxon *M. fontana* subsp. *variabilis* Walters is discussed.

### INTRODUCCIÓN

*Montia fontana* L. es una especie de distribución cosmopolita que, como la mayoría de las plantas higrófilas, presenta un marcado polimorfismo en dependencia de las condiciones ecológicas en que se desarrolla. No extraña por tanto la diversidad de táxones descritos por los diversos autores que han estudiado el género.

WALTERS (1964) consideró cuatro subespecies en Europa: *M. fontana* L. subsp. *fontana*, *M. fontana* L. subsp. *chondrosperma*

\* Instituto Botánico, Universidade de Coimbra. 3049 Coimbra, Portugal.

\*\* Departamento de Botánica, Facultad de Biología, Universidad Complutense. 28040 Madrid, España.

\*\*\* Real Jardín Botánico, C. S. I. C., Plaza de Murillo, 2. 28014 Madrid, España.

(Fenzl) Walters, *M. fontana* L. subsp. *amporitana* Sennen y *M. fontana* L. subsp. *variabilis* Walters. MOORE (1963) amplió el estudio a otros continentes aceptando los criterios de dicho autor.

### Las subespecies de *M. fontana*

Tras el estudio del material peninsular (BC, BCF, COI, ELVE, G, GDA, JACA, LISE, LISI, LISU, MA, MAC, MAF, MGC, PO, SEV, herbario de M. Laínz y herbario de F. Esteve)<sup>1</sup>, y basándonos en la ornamentación de la testa de la semilla (MOORE, 1963; WALTERS, 1964), distinguimos las siguientes subespecies:

*Montia fontana* L., Sp. Pl.: 87 (1753)<sup>2</sup>

- a) subsp. *fontana*. — Colmeiro, Enum. Rev. Pl. Penins. hispano-lusit. 2: 418 (1886), pro parte. — Walters in *Watsonia* 3(1): 4, fig. 5 (1953); in Tutin & al., *Fl. Eur.* 1: 115 (1964). — Moore in *Bot. Not.* 116(1): 23, t. 1, fig. a-e (1963). — Pedersen in *Bot. Tidsskr.* 63(4): 370 (1968). — Czerep., *Addit. Corrig. Fl. U. S. S. R.*: 470 (1973). — Jage in *Hegi, Ill. Fl. Mitt.-Eur.*, ed. 2, 2(3): 1216, fig. 617 f-g, fig. 642a (1979); in Pignatti, *Fl. Italia* 1: 188 (1982).

*M. fontana* L., Sp. Pl.: 87 (1753), s. str.

*M. fontana* var. *major* sensu Colmeiro, Enum. Rev. Pl. Penins. hispano-lusit. 2: 419 (1886), pro parte, non Willd. (1797).

*M. lamprosperma* Cham. in *Linnaea* 6: 564 (1831). — Ascherson & Graebner, *Syn. Mitteleur. Fl.* 5(1): 435 (1919). — Kuzen. in *Komar., Fl. U. S. S. R.* 6: 385, t. 19, fig. 7 (1936).

*M. rivularis* auct. [Willk. in Willk. & Lange, *Prodr. Fl. Hispan.* 3: 169 (1874), pro parte. — Losa & P. Monts., *Aport. Conoc. Fl. Andorra:* 82 (1951)], non C. C. Gmelin (1805).

Semillas negras, brillantes, de hasta 1,5 mm de diámetro. Testa sin tubérculos, reticulada, constituida por células pentagonales o hexagonales irregulares, lisas y con un poro en cada vértice (Lám. I, fig. 1) ( $2n = 20$ , MOORE, 1963).

<sup>1</sup> En el mapa marcamos las localidades de todos los pliegos estudiados, pero nel texto, para no lo alargar demasiado, citamos solo dos por provincia.

<sup>2</sup> No indicamos los nombres de los táxones americanos considerados sinónimos para las tres subespecies, por no haber sido estudiado el material de este continente. Para dichas sinonimias, consultar los trabajos de MOORE (1963) y KOZHEVNIKOV (1979).

Coloniza charcas, remansos de arroyos y cursos de agua entre los 1200 y 3000 m.

Andorra, s. l., VII-1949, T. M. Losa & P. Montserrat s. n. (MA 154424; MAF 44936).

España, GERONA: Molló, coll de les Ares, 1500 m, 31-V-1960, N. Y. Sandwith & P. Montserrat s. n. (JACA 17260); Set Casas, 1200 m, VII-1880, F. Trèmols s. n. (MA 30280).—GRANADA: Sierra Nevada, Chorreras Negras de Siete Lagunas, 2900 m, 30-VIII-1973, J. Fernández Casas s. n. (G).—LÉRIDA: Músser i Aranser, s. d. (BC 603799).—MÁLAGA: Montes cerca Ronda e Igualeja, VII-1837, E. Boissier s. n. (G) (cita de dudosa fiabilidad). (Mapa 1).

- b) subsp. *amporitana* Sennen in Bull. Géogr. Bot. 21: 110 (1911).—Moore in Bot. Not. 116(1): 24, t. 1, fig. i-o (1963).—Lainz & al. in Bol. Inst. Est. Asturianos 6: 43 (1963).—Walters in Tutin & al., Fl. Europ. 1: 115 (1964).—Pedersen in Bot. Tidsskr. 63(4): 370 (1968).—Franco, Nova Fl. Portugal 1: 110 (1971), pro parte.—Mayor & Diaz, La Flora Asturiana: 242, t. 20, fig. 186A (1977).—Jaje in Hegi, Ill. Fl. Mitt.-Eur., ed. 2, 2(3): 1219, fig. 617 i, 642 c (1979); in Pignatti, Fl. Italia 1: 188 (1982).

*M. fontana* auct. [Brot., Fl. Lusit. 1: 124 (1804).—Colmeiro, Enum. Rev. Pl. Penins. hispano-lusit. 2: 418 (1886), pro parte.—Cutanda, Fl. Comp. Madrid: 299 (1861).—Vicioso in Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat. 10(3-4): 83 (1911).—Fdez-Galiano & Silvestre in Lagascalia 5(1): 95 (1975).—Rivera & Cabezudo in Acta Bot. Malacitana 10: 64 (1985)], non L. (1753).

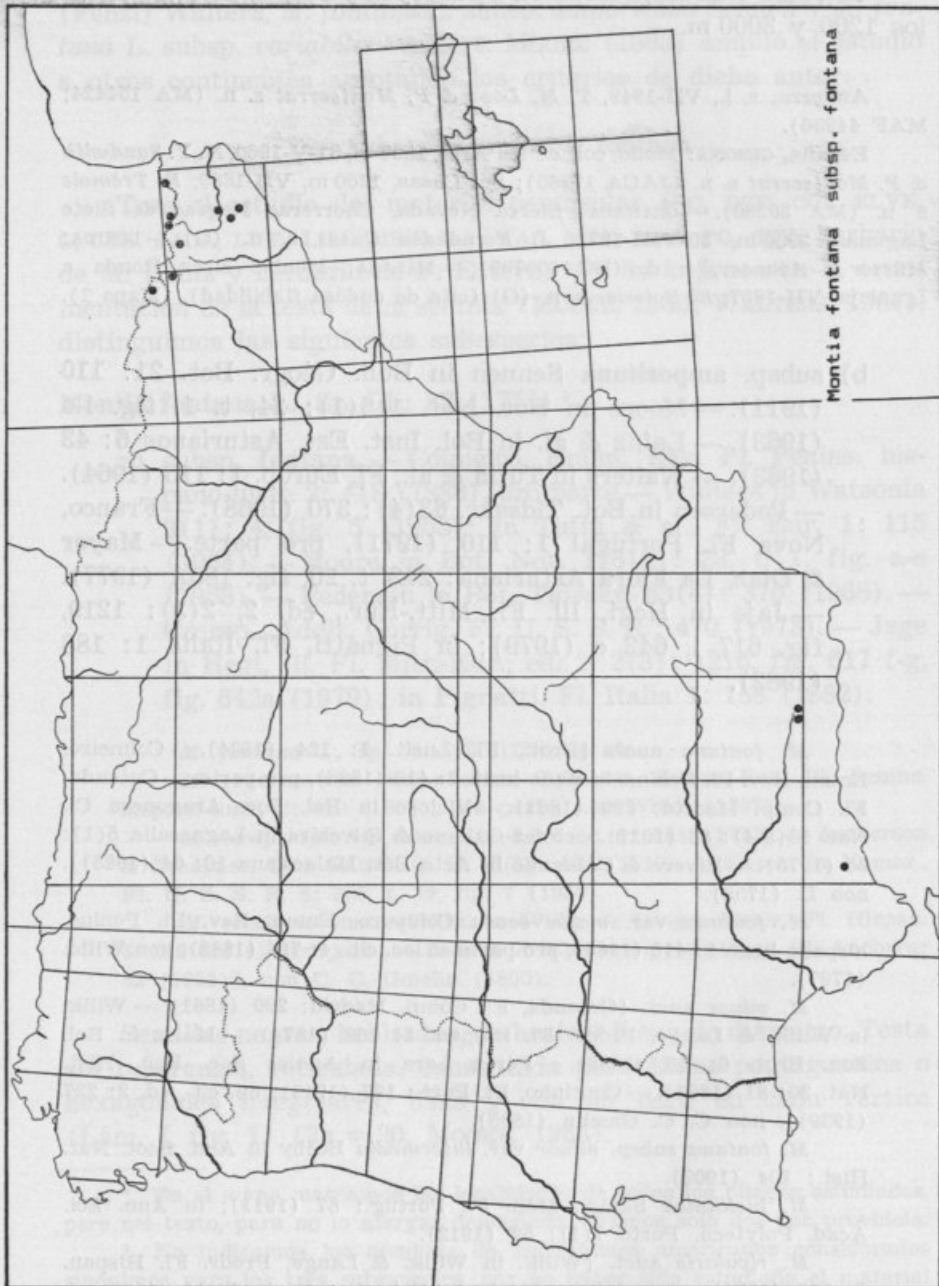
*M. fontana* var. *major* sensu Colmeiro, Enum. Rev. Pl. Penins. hispano-lusit. 2: 419 (1886), pro parte et loc. cit., 4: 754 (1888), non Willd. (1797).

*M. minor* auct. [Cutanda, Fl. Comp. Madrid: 299 (1861).—Willk. in Willk. & Lange, Prodr. Fl. Hispan. 3: 169 (1874).—Mariz in Bol. Soc. Brot. 6: 43 (1888).—Pérez Lara in Anales Soc. Esp. Hist. Nat. 20: 81 (1891).—Coutinho, Fl. Port.: 197 (1913); op. cit., ed. 2: 237 (1939)], non C. C. Gmelin (1805).

*M. fontana* subsp. *minor* var. *intermedia* Beeby in Ann. Scot. Nat. Hist.: 104 (1909).

*M. lusitanica* Samp., Man. Fl. Portug.: 87 (1911); in Ann. Sci. Acad. Polytecn. Porto 7(1): 52 (1912).

*M. rivularis* auct. [Willk. in Willk. & Lange, Prodr. Fl. Hispan. 3: 169 (1874), pro parte.—Mariz in Bol. Soc. Brot. 6: 44 (1888).—Coutinho, Fl. Port.: 197 (1913), pro parte; op. cit., ed. 2: 237 (1939),



Mapa 1. — Distribución de *Montia fontana* subsp. *fontana* en la Península Ibérica.

pro parte. — Cadevall, Fl. Catalunya 2: 371 (1919). — Kuzen. in Komar., Fl. U. S. S. R. 6: 295 (1936)], non C. C. Gmelin (1805).

*M. limosa* Deck. in Verh. Böt. Vereins Brandenburg 69: 57 (1927).

*M. fontana* subsp. *intermedia* (Beeby) Walters in Watsonia 3(1): 2, fig. 2 (1953). — R. Fernandes in Bol. Soc. Brot., Sér. 2, 34: 118 (1960), pro parte.

*M. fontana* subsp. *variabilis* Walters in Watsonia 3(1): 2, fig. 3-4 (1953). — in Tutin & al., Fl. Eur. 1: 115 (1964). — Moore in Bot. Not. 116(1): 24, fig. 1, f-h (1963). — Jage in Hegi III. Fl. Mitt.-Eur., ed. 2, 2(3): 1217, fig. 617h-642b (1979); in Pignatti, Fl. Italia 1: 188 (1982). — Syn nov.

*M. fontana* subsp. *fontana* var. *variabilis* (Walters) Kozhevnik. in Journ. Bot. U. S. S. R. 64(5): 698 (1979). — Syn nov.

Semillas brillantes, de (0,7)0,8-1,2(1,4) mm de diámetro. Testa reticulada constituida por células pentagonales o hexagonales irregulares de superficie ligeramente rugosa, con excrescencias cuticulares y provistas de un poro por vértice; tubérculos cónicos, agudos o subagudos, situados preferentemente en la quilla y desapareciendo hacia el hilo (Lám. I, fig. 3) (2n = 20, MOORE, 1963; LÖVE & KJELLQUIST, 1974).

Taxon de distribución amplia desde el nivel del mar hasta los 2300 m. Fuentes, arroyos, bordes de rios, cursos de agua y zonas encharcadas.

España, ALMERÍA: El Almirante, 2300 m, 23-VII-1959 (BCF 31664). — ASTURIAS: Somiedo, 14-VII-1958, Dardichon & M. Lainz s. n. (herb. M. Lainz); Puerto del Conde, VII-1980, T. E. Díaz s. n. (MGC 14103). — ÁVILA: Riofrio, 7-VI-1977, E. Fuertes s. n. (MAC 7611); Cepeda la Mora, 5-VII-1982, S. Rivas-Martínez & al. s. n. (MAF 112755). — BADAJOZ: Entre Castuera y Malpartida de la Serena, 410 m, 11-III-1965, P. Monserrat s. n. (JACA 3065); Jerez de los Caballeros, 580 m, 25-IV-1980, P. Monserrat s. n. (JACA 10380). — BARCELONA: Igualada (MA 164032). — BURGOS: Quintanar de la Sierra, VII-1925, T. M. Losa s. n. (MA 235324); Neila, Laguna Negra, 1900 m, 28-VIII-1974, A. segura s. n. (MA 309393). — CÁCERES: Plasencia, 19-IV-1975, M. Carrasco & al. s. n. (MA 313267; MAC 13314); Villar del Pedroso, 15-IV-1967, M. Ladero s. n. (MAF 81474). — CÁDIZ: Chiclana, 1804, J. D. Rodríguez s. n. (MA 163455); Alcalá de los Gazules, El Picacho, 4-V-1973, S. Silvestre s. n. (SEV 19495). — CANTABRIA: Tresviso, 6-X-1963, Pereda s. n. (herb. M. Lainz). — CIUDAD REAL: Malagón, laguna de Nava Grande, 24-V-1986, M. Carrasco & al. s. n. (MAC 16926); Valle de Alcudia, 10-III-1979, M. Ladero & D. Sánchez-Mata s. n. (MAF 108806). — CÓRDOBA: Villanueva del Rey, 3-IV-1979, M. Arenas & al. s. n. (SEV 54252); Cardeña, entre Venta del Cerezo y el rio Yeguas, 500-700 m, 14-VI-1984, J. A. Devesa & B. Valdés s. n. (SEV 109495). — GERONA: Cabo Creus, Port de la Selva, VI-1955, T. M. Losa s. n. (BCF 31662); Vilarnadal,

Palau Savardera, IV-1908, *F. Sennen* 554 (MA 30297).—GRANADA: Sierra Nevada, 8 km al N de Laroles, 1800 m, 12-VI-1967, *P. W. Ball & al.* 1612 (SEV 656).—GUADALAJARA: Puebla de Beleña, 18-V-1985, *A. Izuzquiza & P. Pascual* s. n. (MA 312621); Prádena de Atienza, 12-VI-1985, *M. J. Morales & M. Velayos* s. n. (MAC 16927).—HUELVA: Almonte, Doñana, 24-II-1977, *S. Castroviejo & al.* 72MC (MA 243403); Sierra de Aracena, entre El Patrás y Zalamea la Real, 11-III-1980, *J. Rivera* 6213/R (MGC 10280).—JAÉN: Sierra Morena, Despeñaperros, 30-IV-1933, *J. Cuatrecasas* 3788 (MAF 44932).—LA CORUÑA: Noya, 22-IV-1966, *F. Bellot & B. Casaseca* s. n. (MA 202470; MAC 133); Oza de los Ríos, 22-V-1968, *Dalda* s. n. (MAC 1314).—LA RIOJA: Rasillo de Cameros, 20-VI-1920, *J. Zubia* s. n. (MA 30289).—LEÓN: La Baña, Sierra de la Cabrera, 1450 m, 1-VII-1982, *S. Castroviejo & al.* 650GN (MA 281866); Truchas, Sierra de la Cabrera, 1900 m, 5-VI-1978, *E. Temprano* 19ET (MA 281849).—LÉRIDA: Pinell, San Climens, VI-1908, *F. Sennen* s. n. (BC 22422).—LUGO: Sierra de Ancares, 1400 m, 29-VI-1982, *S. Castroviejo & al.* 6931SC (MA 235329); *ibidem*, 1400 m, 16-VII-1982, *S. Castroviejo & al.* 8036SC (MA 330157).—MADRID: El Escorial, 11-V-1976, *S. Cirujano* s. n. (MA 211065); Guadalix de la Sierra, 800 m, 23-V-1968, *P. Montserrat* s. n. (JACA 133468).—ORENSE: Carretera de Reza, 13-V-1905, *Bescansa* s. n. (MA 155249); Rioseco, 8-VI-1979, *M. J. Díez & al.* s. n. (SEV 103171).—PALENCIA: Camporredondo de Alba, 11-VII-1950, *M. Lainz* s. n. (herb. M. Lainz); Alar del Rey, VI-1936, *T. M. Losa* s. n. (BCF 31659).—PONTEVEDRA: Cangas de Morrazo, Barra-Negra, 26-III-1970, *S. Castroviejo* s. n. (MA 197767); Cangas de Morrazo, laguna de Limens, 8-IV-1971, *S. Castroviejo* s. n. (MA 197768).—SALAMANCA: Las Batuecas, 21-V-1947, *A. Caballero* s. n. (MA 30275); La Alberca, 1-VII-1946, *A. Caballero* s. n. (MA 30273).—SEGOVIA: La Granja, 15-VII-1858, *E. Boissier* s. n. (G); *ibid.*, s. d., *C. Vicioso* s. n. (MA 30277).—SORIA: Vinuesa, laguna Negra, 1750 m, 5-VII-1958, *N. Y. Sandwith & P. Montserrat* s. n. (JACA 53658); Montenegro de Cameros, 1700 m, 6-VIII-1975, *A. Segura* s. n. (MA 309394).—TERUEL: Orihuela del Tremedal, 1600 m, 4-VIII-1961, *J. M. Montserrat* s. n. (JACA 201181); Albaracín, s. d., *B. Zapater* s. n. (MA 235322).—TOLEDO: Talavera de la Reina, 20-IV-1863, *E. Bourgeau* s. n. (COI-WILLK.); La Calderina, 24-V-1924, *P. Font Quer* s. n. (BC 108189).—ZAMORA: Ribadelago, VII-1947, *T. M. Losa* 3327 (BCF 31663).—ZARAGOZA: Calatayud, Sierra de Vicort, VII-1910, *C. Vicioso* s. n. (MA 155248); Sierra de Moncayo, 1000-1250 m, VII-1850, *M. Wilkomm* 411 (CO-WILLK.; G).

Portugal, ALTO ALENTEJO: Portalegre, Ribeira de Nisa, VI-1888, *R. Cunha* s. n. (LISU); Castelo de Vide, 350 m, 29-V-1953, *J. Malato-Beliz* 256 (COI; ELVE; MA 290033).—ALGARVE: Pico da Foia, 22-IV-1968, *A. Fernandes & al.* 10408 (COI); Serra de Monchique, 30-VI-1978, *J. Malato-Beliz & J. A. Guerra* 14961 (MA 290047).—BEIRA ALTA: Vilar Formoso, Ribeira dos Trovões, VI-1884, *R. Cunha* s. n. (LISU); Serra da Estrela, 28-VI-1955, *A. Fernandes & al.* 5699 (COI).—BAIXO ALENTEJO: Serpa, III-1880, *Daveau* s. n. (COI).—BEIRA BAIXA: Ourondinho, 24-IV-1966, *A. Fernandes & al.* 9531 (COI); Castelo Novo, VI-1920, *L. Fernandes* s. n. (LISU).—BEIRA LITORAL: São Martinho da Cortiça, V-1982, *M. Ferreira* s. n. (COI); Lousã, VI-1883, *J. Hen-*

riques s. n. (COI).—DOURO LITORAL: Porto, S. Cruz do Bispo, VI-1838, Johnston s. n. (COI); Porto, 19-V-1876, Winkler s. n. (COI-WILLK).—ESTRE-MADURA: Serra de Sintra, IV-1882, Daveau s. n. (LISU); Sintra, 200 m, 13-V-1938, W. Rothmaler 13160 (G; LISE 4386).—MINHO: Fafe, pr. Várzea da Cova, 7-VIII-1977, J. Malato-Béliz & J. A. Guerra 13959 (ELVE; MA 29046); Insalde, VI-1918, C. Pereira 76 (COI).—TRÁS-OS-MONTES: Montezinho, VI-1884, Moller s. n. (COI); Vimioso, Rio Angueira, 21-V-1951, P. Silva & al. 4749 (MA 290037). (Mapa 2).

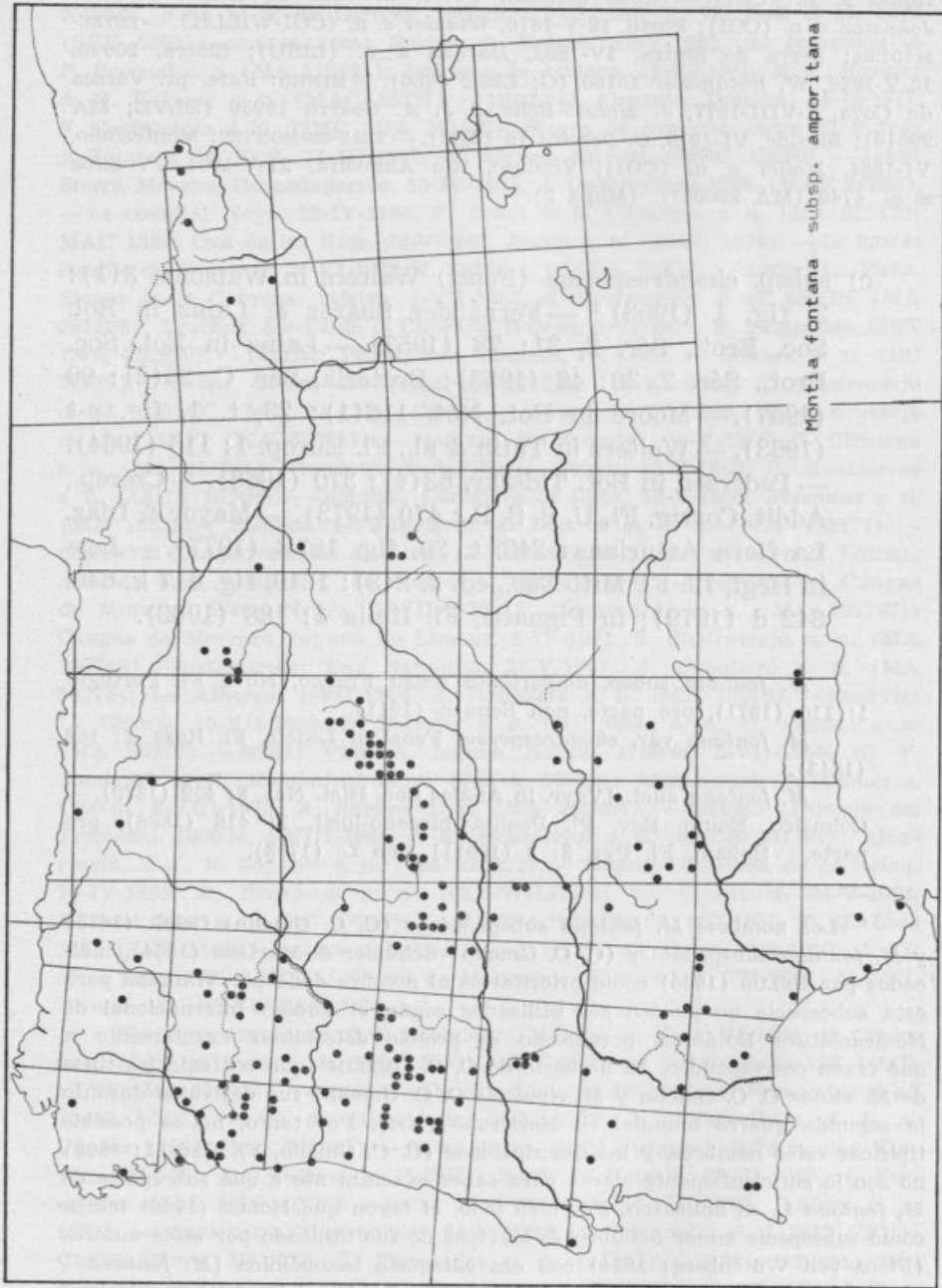
- c) subsp. *chondrosperma* (Fenzl) Walters in Watsonia 3(1): 2, fig. 1 (1953)<sup>3</sup>.—Fernández Suárez & Lainz in Bol. Soc. Brot., Sér. 2, 31: 78 (1957).—Lainz in Bol. Soc. Brot., Sér. 2, 30: 46 (1956); Brotéria, Sér. C, 26(2): 90 (1957).—Moore in Bot. Not. 116(1): 23, t. 1, fig. p-t (1963).—Walters in Tutin & al., Fl. Europ. 1: 115 (1964).—Pedersen in Bot. Tidsskr. 63(4): 370 (1968).—Czerep., Addit. Corrig. Fl. U. S. S. R.: 470 (1973).—Mayor & Díaz, La flora Asturiana: 242, t. 20, fig. 187B (1977).—Jage in Hegi, Ill. Fl. Mitt-Eur., ed. 2, 2(3): 1219, fig. 617 k, 640, 642 d (1979); in Pignatti, Fl. Italia 1: 188 (1982).

*M. fontana* subsp. *amporitana* sensu Franco, Nova Fl. Portugal 1: 110 (1971), pro parte, non Sennen (1911).

*M. fontana* var. *chondrosperma* Fenzl in Ledeb., Fl. Ross. 2: 152 (1843).

*M. fontana* auct. [Vayr. in Anales Soc. Hist. Nat. 8: 409 (1879).—Colmeiro, Enum. Rev. Pl. Penins. hispano-lusit. 2: 418 (1886), pro parte.—Bubani, Fl. Pyr. 3: 2 (1901)], non L. (1753).

<sup>3</sup> Los nombres *M. fontana* subsp. *minor* (C. C. Gmelin) Celak (1875) y *M. fontana* subsp. *minor* (C. C. Gmelin) Schübler & Martens (1834), indicados por HOLUB (1966) como prioritarios al nombre dado por WALTERS para esta subespecie no pueden ser utilizados según el Código Internacional de Nomenclatura Botánica, porque no es posible determinar exactamente a qué taxon corresponden. El herbario de C. C. GMELIN (que contenía los tipos de *M. minor* C. C. Gmelin y *M. rivularis* C. C. Gmelin) fué destruído durante la segunda guerra mundial en Karlsruhe (KR). Por tanto, no es posible tipificar estos nombres, y las descripciones (C. C. Gmelin, Fl. Bad., 1: 1805) no son lo suficientemente claras para saber exactamente a que subespecie de *M. fontana* L. se aplicaron. Por otro lado, el taxon que HOLUB (1966) indica como subespecie *minor* Schübler & Martens no fue utilizado por estos autores (Flora von Wütenberg; 1834) con esa categoría taxonómica [*M. fontana* x *minor* (C. C. Gmelin) Schübler & Martens], por lo cual no tiene prioridad como subespecie.



Mapa 2. — Distribución de *Montia fontana* subsp. *amporitana* en la Península Ibérica.



- M. fontana* var. *major* sensu Colmeiro, Enum. Rev. Pl. Penins. hispano-lusit. 2: 419 (1886), pro parte, non Willd. (1797).
- M. verna* sensu Lainz in Broteria, Sér. C, 24(2-3): 121 (1955), non Neck. (1768).
- M. minor* auct. [Cadevall, Fl. Catalunya 2: 370 (1919).—Kuzen. in Komar., Fl. U. S. S. R. 6: 384, t. 19, fig. 6 (1936)], non C. C. Gmelin (1805).
- M. arvensis* Walh. in Linnaea 14: 547 (1841).
- M. rivularis* sensu Coutinho, Fl. Port.: 124 (1913), pro parte et op. cit., ed. 2: 237 (1939), pro parte, non C. C. Gmelin (1805).
- M. fontana* subsp. *intermedia* sensu R. Fernandes in Bol. Soc. Brot., Sér. 2, 34: 118 (1960), pro parte, non Walters (1953).

Semillas ligeramente brillantes o mates, de (0,8)0,9-1,2 (1,4) mm de diámetro. Testa reticulada, formada por células pentagonales o hexagonales irregulares de superficie rugosa, con excrescencias cuticulares y con un poro en cada vértice. Tubérculos subhemisféricos, obtusos, cubriendo toda la superficie de la semilla (Lám. I, fig. 2) ( $2n = 20$ , MOORE, 1963).

Distribución más restringida que la de la subespecie anterior, desde el nivel del mar a los 1400 m. Coloniza habitats de menor humedad, bordes de pantanos, praderas y zonas arenosas, raramente en corrientes de agua.

España, ÁLAVA: Salvaterra, puerto de Opakua, 1000 m, 20-IV-1982, J. A. Alejandre 554-82 (MA 330153); Cigoitia, Sarria, 1200 m, 5-VIII-1980, F. Heras & al. 2303-80 (MA 330152).—ASTURIAS: Lena, El Campo, 20-IV-1960, M. Lainz s. n. (herb. M. Lainz); Salas, 26-V-1964, M. Lainz s. n. (herb. M. Lainz).—ÁVILA: Sierra de Ojos Albos, Los Regajales, 3-VII-1984, A. R. Burgaz & al. s. n. (MA 310193).—BURGOS: Pineda de la Sierra, VI-1936, T. M. Losa s. n. (BCF 31660); Gamonal, IV-1914, P. Font Quer s. n. (BC 108184).—CÁCERES: Carrascalejo, Sierra de Altamira, 8-IV-1971, M. Ladero s. n. (MAF 78774); Puerto de Miravete, 720 m, 11-IV-1972, P. Montserrat s. n. (JACA 409b72).—CANTABRIA: Mazcuerras, loma de Ibio, 9-IV-1917, M. Lainz s. n. (herb. M. Lainz).—CIUDAD REAL: Cabezarados, laguna Perdiguera, 7-VI-1986, Carrasco & al. s. n. (MAC 18087).—GERONA: Pla de las Arenas, V-1873, E. Vayreda s. n. (BC 615867); Guillerías, V-1875, E. Vayreda s. n. (BC 22408).—GUADALAJARA: La Fuensaviñán, Navajo del Pozo, 12-VI-1982, S. Cirujano & M. Velayos s. n. (MA 312154); Puebla de Beleña, 18-V-1985, A. Izuzquiza & P. Pascual s. n. (MA 312622).—LA RIOJA: Cidamon, ermita del Buen Suceso, 550 m, 9-IV-1983, J. A. Alejandre 271-83 (MA 330151).—LEÓN: Valle del Luna, 22-III-1961, M. Lainz s. n. (herb. M. Lainz); Riaño, Puerto Ventana, cruce camino a Torrestío, 1320 m, 15-VI-1975, P. Montserrat s. n. (JACA 183475).—MADRID: Lozoya, embalse de Pinilla, 18-V-1976, S. Cirujano s. n. (MA 199034); Manzanares el Real, embalse de Santillana, 11-V-1976,

*S. Cirujano* s. n. (MA 211072). — NAVARRA: Olazagutia-Alsasua, 850 m, 1-V-1957, *P. Montserrat* s. n. (JACA 11357); Burguete, puerto de Ibañeta, 1050 m, 28-VI-1958, *N. Y. Sandwith* & *P. Montserrat* s. n. (JACA 7558). — ORENSE: Orense, alrededores, 10-V-1905, *Bescansa* s. n. (MA 155250); Serra do Invernadeiro, vega de Meda, 1100 m, 17-IV-1973, *S. Castroviejo* s. n. (MA 197766). PALENCIA: Villotilla, 19-IV-1952, *M. Lainz* s. n. (herb. M. Lainz); Alar del Rey, VI-1936, *T. M. Losa* s. n. (BCF 31659). — SALAMANCA: Berrocal de la Espinera, 5-V-1975, *P. Montserrat* s. n. (JACA 46175); Alba de Tormes-Martinamor, 14-IV-1962, *P. Montserrat* s. n. (JACA 17262). — SEGOVIA: Fresno de la Fuente, 29-VI-1985, *A. R. Burgat* & *A. Izuzguiza* s. n. (MAC 18540); San Rafael, 23-VI-1935, *M. L. Figueiras* s. n. (MAF 81348). — SORIA: Santa Inés, 3-VI-1959, *A. Segura* s. n. (MA 309389); Villaciervos, 30-V-1970, *A. Segura* s. n. (MA 309387). — VIZCAYA: Peña Gorbea, 1300 m, 21-VI-1926, *P. Font Quer* s. n. (BC 108188). — ZAMORA: Alcañices, 10-V-1963, *P. Montserrat* s. n. (JACA 199363).

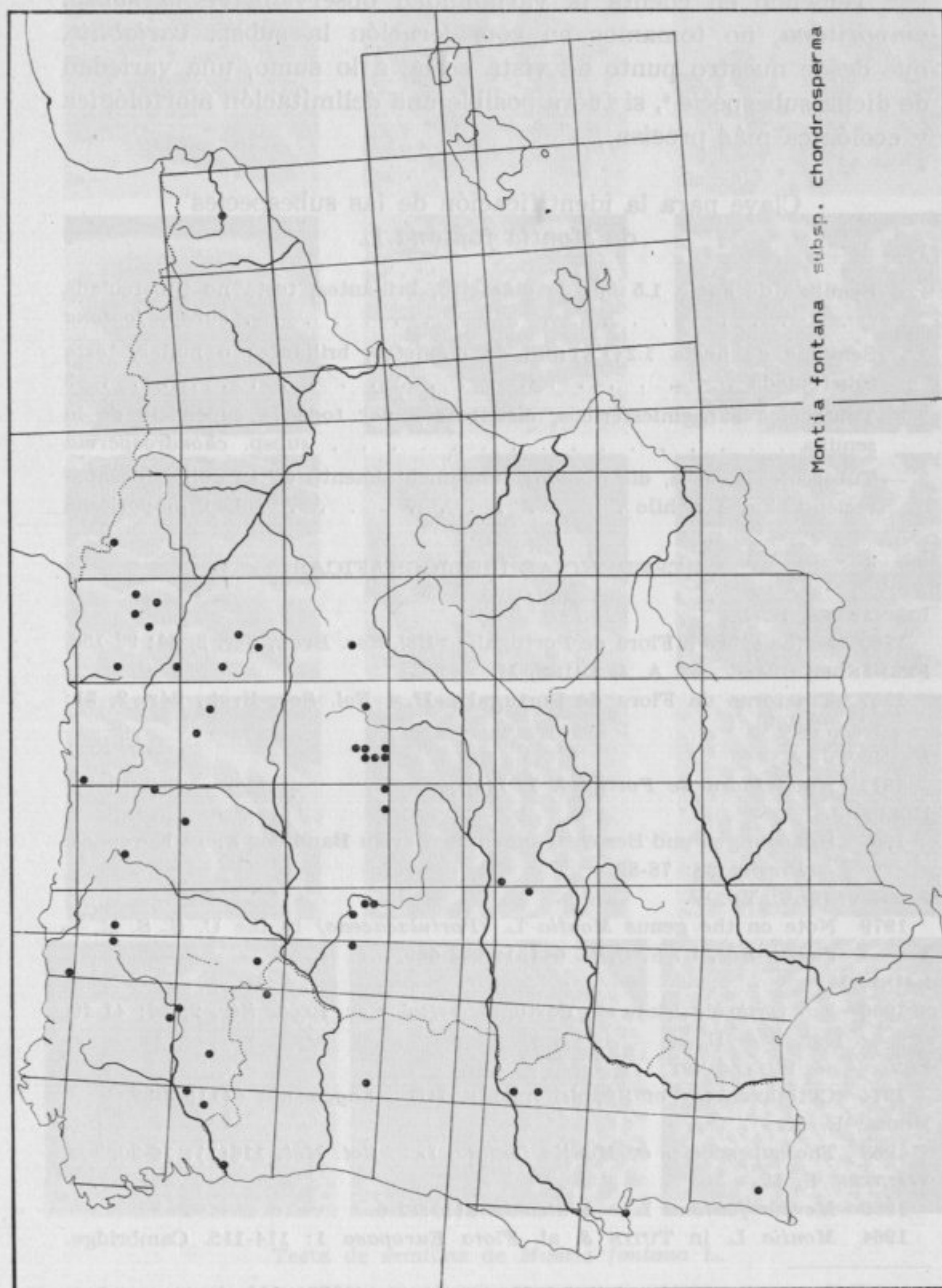
Portugal, ALTO ALENTEJO: Nisa, S. da Graça, 4-V-1971, *J. Malato-Béliz* & *J. A. Guerra* 10002 (ELVE; MA 290043). — ALGARVE: Serra de Monchique, 22-IV-1968, *P. Silva* & *A. N. Teles* (LISE 71072). — BEIRA ALTA: Vilar Formoso, *M. Lainz* s. n. (herb. M. Lainz). — BEIRA LITORAL: Coja, V-1932, *A. Costa* s. n. (COI). — ESTREMADURA: Serra da Arrábida, Fóia, 22-IV-1968, *P. Silva* & *A. N. Teles* 7983 (COI). — MINHO: Vila Nova de Cerveira, 15-IV-1946, *M. Silva* (LISE 22571). — TRÁS-OS-MONTES: Argozelo, s. d., *Miranda Lopes* 535 (COI). (Mapa 3).

### Consideraciones sobre *M. fontana* subsp. *variabilis* Walters

Junto a los tres táxones descritos, WALTERS (1953) considera otra subespecie, *M. fontana* subsp. *variabilis*, caracterizada por presentar semillas con ornamentación intermedia entre las subespecies *fontana* y *amporitana*.

Si bien es cierto que entre el material estudiado existen algunos ejemplares (BC 114284; MA 290035, 175479, 30285, 235324, 164032, 30302, 211057; MAF 44939) que pudieran atribuirse a dicho taxon, observamos toda una gradación entre la ornamentación de las semillas de éstos y la de las semillas de la subespecie *amporitana* (BC 641905; MA 290034, 30293, 235329, 163455, 236503; MAF 44930, 44941, 112753, 44926). Esta variabilidad en el tamaño y forma de los tubérculos puede incluso apreciarse dentro de un mismo individuo.

Por otro lado, no parece muy acertado suponer que la subespecie *variabilis* haya surgido de la hibridación entre las subespecies *amporitana* y *fontana*, máxime cuando se acepta que esta especie presenta autopolinización y en condiciones adversas cleistogamia (MOORE, 1963).



Mapa 3. — Distribución de *Montia fontana* subsp. *chondrosperma* en la Península Ibérica.

Teniendo en cuenta la variabilidad observada en la subsp. *amporitana*, no tomamos en consideración la subsp. *variabilis*, que desde nuestro punto de vista sería, a lo sumo, una variedad de dicha subespecie<sup>4</sup>, si fuera posible una delimitación morfológica y ecológica más precisa.

Clave para la identificación de las subespecies  
de *Montia fontana* L.

1. — Semillas de hasta 1.5 mm de diámetro, brillantes, testa no tuberculada . . . . . subsp. *fontana*
1. — Semillas de hasta 1.2(1.4) mm de diámetro, brillantes o mates, testa tuberculada . . . . . 2
2. — Tubérculos subhemisféricos, distribuidos por toda la superficie de la semilla . . . . . subsp. *chondrosperma*
2. — Tubérculos agudos, distribuidos fundamentalmente en la quilla, desapareciendo hacia el hilo . . . . . subsp. *amporitana*

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

FERNANDES, R.

1960 Notas sobre a Flora de Portugal. — *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 34: 99-158.

FERNÁNDEZ SUÁREZ, M. A. & LAÍNZ, M.

1957 Em torno da Flora de Portugal — II. — *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 31: 77-80.

FRANCO, J. A.

1971 *Nova Flora de Portugal*. 1. Lisboa.

HOLUB, J.

1966 Rgänzungen und Berichtigungen zum erten Band der Flora Europaea. — *Preslia* 38: 78-82.

KOZHEVNIKOV, YU. P.

1979 Note on the genus *Montia* L. (*Portulacaceae*) in the U. S. S. R. — *Journ. Bot. U. S. S. R.* 64(5): 693-699.

LAÍNZ, M.

1956 Em torno da Flora de Portugal. — *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 30: 41-49, est. I & II.

LÖVE, A. & KJELLQUIST

1974 Cytotaxonomy of Spanish plants. III. — *Lagascalia* 4(1): 3-32.

MOORE, B. M.

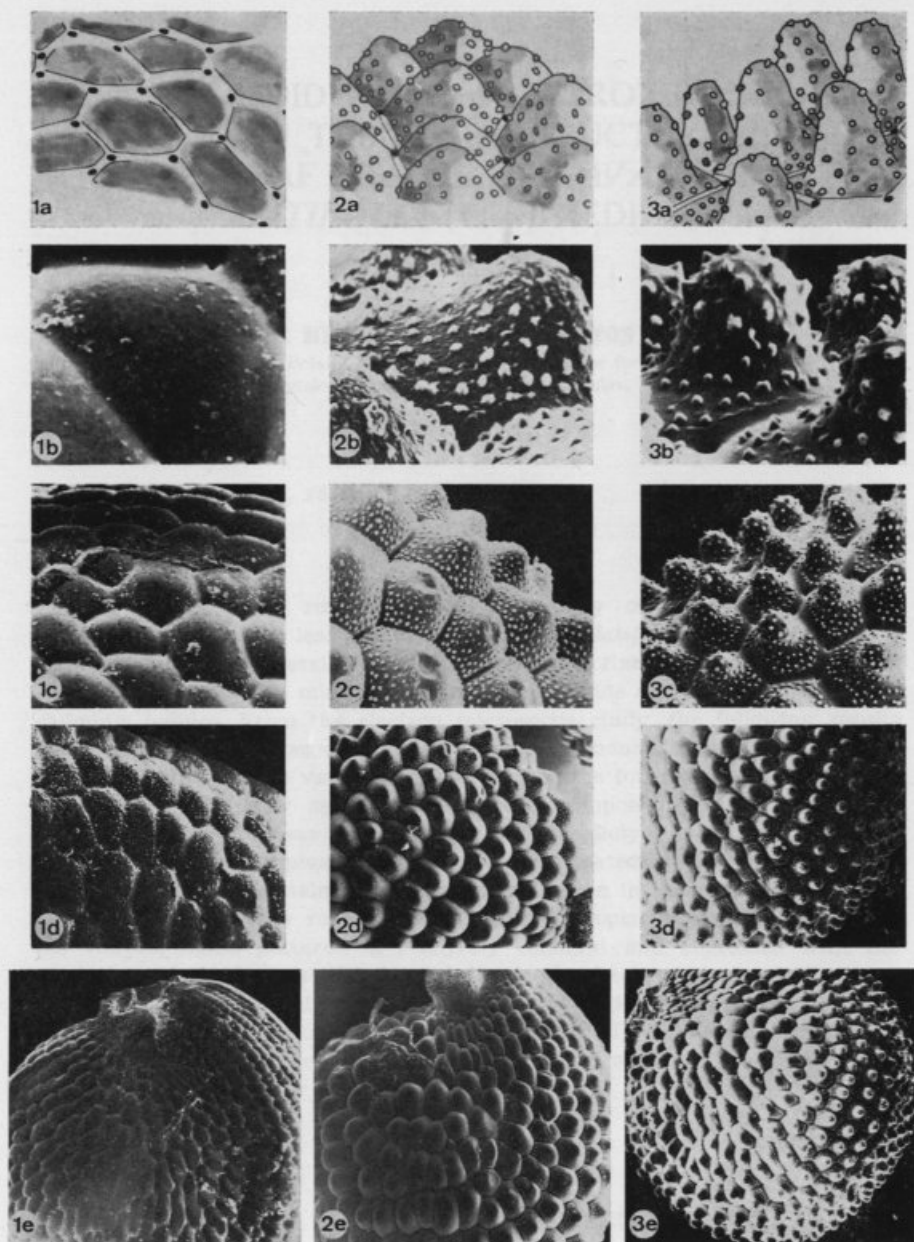
1963 The subspecies of *Montia fontana* L. — *Bot. Not.* 116(1): 16-30.

WALTERS, S. M.

1953 *Montia fontana* L. — *Watsonia* 3(1): 1-6.

1964 *Montia* L. in TUTIN & al. *Flora Europaea* 1: 114-115. Cambridge.

<sup>4</sup> Rango que ya le atribuyó KOZHEVNIKOV (1979) [*M. fontana* subsp. *fontana* var. *variabilis* (Walters) Kozhev.].



Testa de semillas de *Montia fontana* L.

1. subsp. *fontana*; 2. subsp. *chondrosperma*; 3. subsp. *amporitana*; a) Dibujos de las células de la testa ( $\times 150$ ); b) Células de la testa ( $\times 500$ ); c) Células de la testa ( $\times 150$ ); d) Quillas de las semillas ( $\times 50$ ); e) Semillas ( $\times 50$ ).



IODIDE/OSMIUM TETROXIDE  
MIXTURES IN THE ULTRASTRUCTURAL STUDY  
OF LEAF TISSUES OF *LAVANDULA*  
*LATIFOLIA* (L. f.) *MEDICUS*

by

J. F. MESQUITA and J. D. SANTOS DIAS

Department of Botany, E. M. Laboratory and Center for Plant Physiology  
and Cytology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal

Received December 15, 1986.

SUMMARY

Integrated in a running cytological study on the plant secretory structures, samples of leaf tissues of *Lavandula latifolia* (L. f.) *Medicus* in different stages of development and previously fixed with glutaraldehyde, were impregnated with mixtures of osmium tetroxide and zinc, potassium and cadmium iodides. From the electron microscope study, the following results stand out: a) In the tissues we are observed (glandular trichomes, epidermis and mesophyll) stained vacuoles at the level of the tonoplast and/or vacuolar content are frequently seen. b) Manytimes, components of the endomembranous system (nuclear envelope, E. R., and dictyosomes), mitochondria, proplastids and chloroplasts also appear impregnated. c) For any organelle mentioned above, the staining is very variable even in the same cell.

Otherwise, in the reactive mitochondria, proplastids, and chloroplasts, the «impregnation pattern» is relatively constant and expressed with the formation of electron dense deposits at the level of the stroma, tubular invaginations of the plastidal envelope and photosynthetic apparatus respectively. The envelope of these organelles is not stained. d) Significant differences among the three mixtures essayed were not found either in the preservation of the cell structure or in the reactivity pattern.

INTRODUCTION

THE impregnation techniques were long ago introduced in plant cytology, both in optical and electron microscopy.

Independently of treating animal or plant tissues, the interpretation of the results obtained is very controverse, specially concerning the mechanism of the reaction and the eventual

specificity of marking of cell structures (MAILLET, 1968; MARTY, 1973; POUX, 1973; PELLEGRINO DE IRALDI, 1977; BUTOR and MARTY, 1984; CARRAPIÇO and col., 1984).

The advantage of substitution of the classical zinc iodide by alkaline iodides in plant cells is also discussable (CARRAPIÇO and col., 1981, 1984).

During the cytological study of plant secretory structures which we have developed (MESQUITA & col., 1981, 1984) we used sometimes the method of metallic impregnation. The pattern of marking which we are then obtained, led us to experiment also other mixtures and to extend this study to other types of cells. The results we present now are referent to leaf tissues of *Lavandula latifolia* (L. f.) Medicus.

#### MATERIAL AND METHODS

Plants of *Lavandula latifolia* harvested in, Portela do Gato-Coimbra, or obtained from seeds in the Botanic Garden of University of Coimbra, were used in this study.

Samples of leaves in different stages of development (1-8 mm) were fixed in 2.5% glutaraldehyde at pH 6.8 in 0.1M phosphate buffer for 1-2 hrs at room temperature. After washing in the same buffer, the material was impregnated with different iodide-osmium tetroxide mixtures for 12-24 hrs in the dark, at the room temperature. The following mixtures were used: iodide of zinc/osmium tetroxide ( $ZnI_2-OsO_4$ ), iodide of potassium/osmium tetroxide ( $KI-OsO_4$ ) and iodide of cadmium/osmium tetroxide ( $CdI-OsO_4$ ). These impregnation mixtures were prepared according MARTY (1973) and BUTOR & MARTY (1984): 2% osmium tetroxide and 4% iodide solutions were mixed in the proportion of 1:4, just before to be used.

After impregnation, the pieces were washed in destiled water, dehydrated with alcohol and embedded in Spurr's low viscosity resin (SPURR, 1969).

Ultrathin sections obtained in a LKB Ultratome III, using glass or diamond knives, were picked up on coppergrids and observed in a Siemens Elmiskop 101 with no additional staining. Exceptionally some sections were lightly stained with uranyl acetate and/or lead citrate.



## RESULTS AND DISCUSSION

The observation, in small magnifications, of any of the leaf tissues we studied show immediately that, regardlessly of the mixture used, it is not possible to describe a stable impregnation pattern. However, on the cell wall and on the nuclear content (nucleoplasm, chromatin and nucleole) any marking was never observed.

A more detailed study of samples incubated in the three mixtures referred above, showed the following results:

### 1. Mixture $ZnI_2$ - $OsO_4$

In the secretory trichomes or in the cells of epidermis and mesophyll, the vacuoles appear frequently stained at the level of the tonoplast and/or vacuolar content (Pl. I, fig. 3; Pl. II, fig. 3). This marking, however, is not constant, since in adjacent cells or even in the same cell, there appear strongly reactive vacuoles with others without any trace of marking (Pl. I, fig. 3; Pl. II, fig. 3). The components of the endomembranous system react also in a variable way (Pl. I, fig. 2).

In effect, in some cells, the nuclear envelope and the endoplasmic reticulum (E. R.) are intensely impregnated, in contrast with the discrete reactivity of the dictyosomes whereas in adjacent cells all the endomembranous system which is visible in the section is seen stained (Pl. I, fig. 2). As to the dictyosomes, the most frequent image is that of preferential marking of the cisternae of the forming face (proximal pole) (Pl. II, figs. 1, 3; Pl. III), although golgi bodies apparently with all cisternae impregnated have also been observed (Pl. I, fig. 1).

Similarly to what happens with the components of the endomembranous system, also the semi-autonomous cytoplasmic organelles with double envelope (mitochondria and plastids) show a variable reactivity. So, in the same cell or in contiguous cells, stained or not stained organelles can be seen frequently together (Pl. II, figs. 1, 5).

However, it is interesting to emphasize that, whenever this organelles are seen reactives, their pattern of marking is notably constant: in the mitochondria, the electrondense deposit is always localized in stroma whereas the intermembranous compartment

is seen electrotransparent (Pl. I, fig. 1; Pl. III); then, the reactive mitochondria have an aspect of dense bodies spotted with light areas corresponding to do lumen of their cristae (Pl. I, fig. 1; Pl. III). As to the proplasts, are the tubular invaginations of the inner membrane of their envelope which appear impregnated, any marking in the stroma or in the envelope is not visible (Pl. II, figs. 1, 3, 4; Pl. III).

We can say that this plastidal pattern of staining is maintained in the chloroplasts, because whenever these organelles are shown reactives, the electrondense deposit is systematically localized at the level of the photosynthetic apparatus (Pl. I, figs. 1, 3; Pl. II, fig. 2).

## 2. Mixtures $KI-OsO_4$ and $CdI-OsO_4$

The results obtained with these two mixtures in the already referred conditions (see Material and Methods) are not significantly different from those we have described for the mixture  $ZnI_2-OsO_4$  (see Pl. IV, V, VI and respective legends).

Obviously, in any of the three experiences, zones of tissue better preserved than the others were found, being the degree of impregnation also variable in the same sample.

Sometimes, to enhance the background constituted by the not impregnated structures, a light counterstaining of the ultrathin sections was used. Then, the marking is not affected and the image is clarified.

The mechanism responsible for the formation of the dense precipitate in these impregnation techniques has been much discussed.

MAILLET (1968) admitted that the metallic deposit results from the reaction of the mixture  $ZnI_2-OsO_4$  with the lipidic residues of the lipoproteins, because after the selective extraction of the lipids with suitable reagents there would be no impregnation.

Later, MARTY (1973), adapting the Maillet's technique to the plant tissue, considers that the reactive structures have not any common «chemical entity» responsible for the reaction; these structures will be rather characterized by a certain potential redox which permits the reduction of the mixture  $ZI_2-OsO_4$ .

More recent studies including spectroscopic and x-ray fluorescence analysis seem to support this point of view, having been

claimed that the electrondensity of the reactive sites in the cell «is controlled by the presence and the oxidation state of iodine that acts as a regulator of the potential redox of the reaction of  $\text{OsO}_4$  with the biological material» (CARRAPIÇO & col., 1984).

Then, the formation of the electrondense deposit at the level of the reactive cell structures, shall depend from local physical and/or chemical conditions which, in some way, reflect their functional state (BUTOR and MARTY, 1984).

The results we are obtained in the leaf tissues of *Lavandula latifolia* support this interpretation. Really, otherwise, it will not understandable that reactive mitochondria and plastids near other non-reactives organelles could be seen, while structures, with very different chemical compositions, are shown simultaneously impregnated.

These apparently identical reactions, which are induced by very different cell components show clearly that there is no stable correlation between the reactivity of the structure and its chemical composition. So, the impregnation techniques are not suitable for specific marking, this is, they have not cytochemical value. Their use with this aim (CARRAPIÇO, 1984) can, therefore, to distort results and interpretations. However, the high contrast, although not specific, obtained with the mixtures iodide/osmium tetroxide, mainly at the level of the endomembranous system, makes these techniques useful as a complementar method in some studies (FAVARD and CARASSO, 1973; MARTY, 1980; WILSON and MAHLBERG, 1980; MESQUITA and DIAS, 1981, 1984; BUTOR and MARTY, 1984).

BUTOR and MARTY (1984) in root tip cells of *Raphanus sativus* impregnated with mixtures of osmium tetroxide with several alkanin iodides obtained different patterns of staining, according to the tissue was or not previously fixed in glutataraldehyde. They concluded that it is necessary to do more studies to understand the eventual effect of this fixative in the results obtained with the impregnation techniques.

Nevertheless, it is interesting to emphasize now that, in the same experimental conditions (impregnation after prefixation), our results in *Lavandula latifolia* are substantially different from those obtained by BUTOR and MARTY (1984) in *Raphanus sativus*, namely in what concerns the mixtures  $\text{KI-OsO}_4$  and  $\text{CdI-OsO}_4$ . Effectively, in conformity to these authors, apart from the

nucleolus, all the other cell components considered in their study react in a different way in relation to these mixtures: they stain with KI-OsO<sub>4</sub> but not with CdI-OsO<sub>4</sub>. However, in the leaf tissues of *Lavandula latifolia* submitted to the same treatment, the vacuoles, the endomembranous system, photosynthetic lamellae and mitochondrial stroma, although not systematically, appear stained with CdI-OsO<sub>4</sub> (Pls. V and VI); furthermore, as we have referred, we did not find significant differences between the CdI and the others iodides we have used (ZnI<sub>2</sub> and KI). The very different characteristics of our tissues comparatively to those used by BUTOR and MARTY (1984) may be could explain these apparently discordant results.

As to the better preservation of the plant tissues which, according to CARRAÇO and col. (1984), is obtained with alkaline iodides in comparison with ZnI<sub>2</sub>, we must refer that we did not find any significant difference (compare the Pl. I, II, III with Pl. IV, V, VI). With any of the mixtures we used we obtained acceptable results, although zones of tissue better preserved than others have been observed in all experiences. But this is a general rule in microscopy, independently of the technique which we have used.

#### BIBLIOGRAPHY

BUTOR, C. & MARTY, F.

- 1984 Staining of plant cells by osmium-iodide mixtures. *Biol. Cell*, **52**: 87-90.

CARRAÇO, F.

- 1984 Microcorpos em *Bryum capillare* Hedw. Aspectos morfo-funcionais e biogénese. Tese de doutoramento. Faculdade de Ciências. Univ. de Lisboa.

CARRAÇO, F., MADALENA-COSTA, F. & PAIS, M. S.

- 1984 Impregnation of biological material by ZnI<sub>2</sub>-OsO<sub>4</sub>, KI-OsO<sub>4</sub> and NaI-OsO<sub>4</sub> mixtures for electron microscopic observations: chemical interpretation of the reaction. *J. of Microscopy*, **134**: 193-202.

CARRAÇO, F. & PAIS, M. S.

- 1981 Iodure de potassium, tetroxyde d'osmium: un mélange d'imprégnation pour la microscopie électronique. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, **292**: 131-135.

FAVARD, P. & CARASSO, N.

- 1973 The preparation and observation of thick biological sections in the high voltage electron microscope. *J. Microscopy*, **97**: 59-81.

## MAILLET, M.

- 1968 Étude critique des fixations au tetroxyde d'osmium-iodure. In: 53<sup>e</sup> Congrès Ass. Anat., G. Thomas ed., Nancy, 233-279.

## MARTY, F.

- 1973 Sites réactifs à l'iodure de zinc-tétoxyde d'osmium dans les cellules de la racine d'*Euphorbia characias* L. *C. R. Acad. Sci.* **277D**: 1317-1230.  
1980 High voltage electron microscopy of membrane interactions in wheat. *J. Histochem. Cytochem.* **28**: 1129-1132.

## MESQUITA, J. F. &amp; SANTOS DIAS, J. D.

- 1984 Ultrastructural and cytochemical study of the laticifers of *Cannabis sativa* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **57**: 337-356.

## PELLEGRINO DE IRALDI, A.

- 1977 Significance of the maillet method (ZIO) for cytochemical studies of subcellular structures. *Experientia*, Basel ed. **33**: 1-10.

## POUX, N.

- 1973 Observation en microscopie électronique de cellules végétales imprégnées par l'osmium. *C. R. Acad. Sci. Paris*, Sér. D, **276**: 2163-2166.

## SANTOS DIAS, J. D. &amp; MESQUITA, J. F.

- 1981 Sur l'origine des poches sécrétices dans les feuilles d'*Heteropyxis* Harv. *Bol. Soc. Brot.* Sér. 2, **53**: 1183-1195.

## WILSON, K. J. &amp; MAHLBERG, P. G.

- 1980 Ultrastructure of developing and mature nonarticulated laticifers in the milkweed *Asclepias syriaca* L. (*Asclepiadaceae*). *Amer. J. Bot.* **67** (8): 1160-1170.



All figures refer to leaf tissues of *Lavandula latifolia* (L. f.) Medicus fixed in glutaraldehyde and impregnated with different iodide-osmium tetroxide mixtures. Sometimes, a light counterstaining of the ultrathin sections was carried out (Pl. I, figs. 1, 3; Pl. II and Pl. III). (See Material and Methods).

#### ABBREVIATIONS

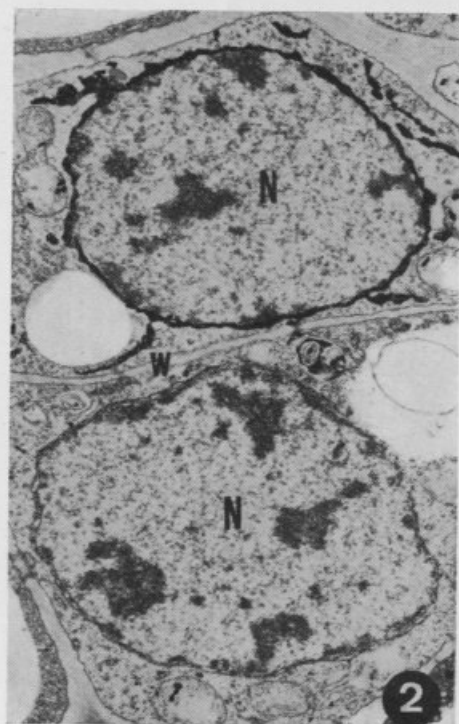
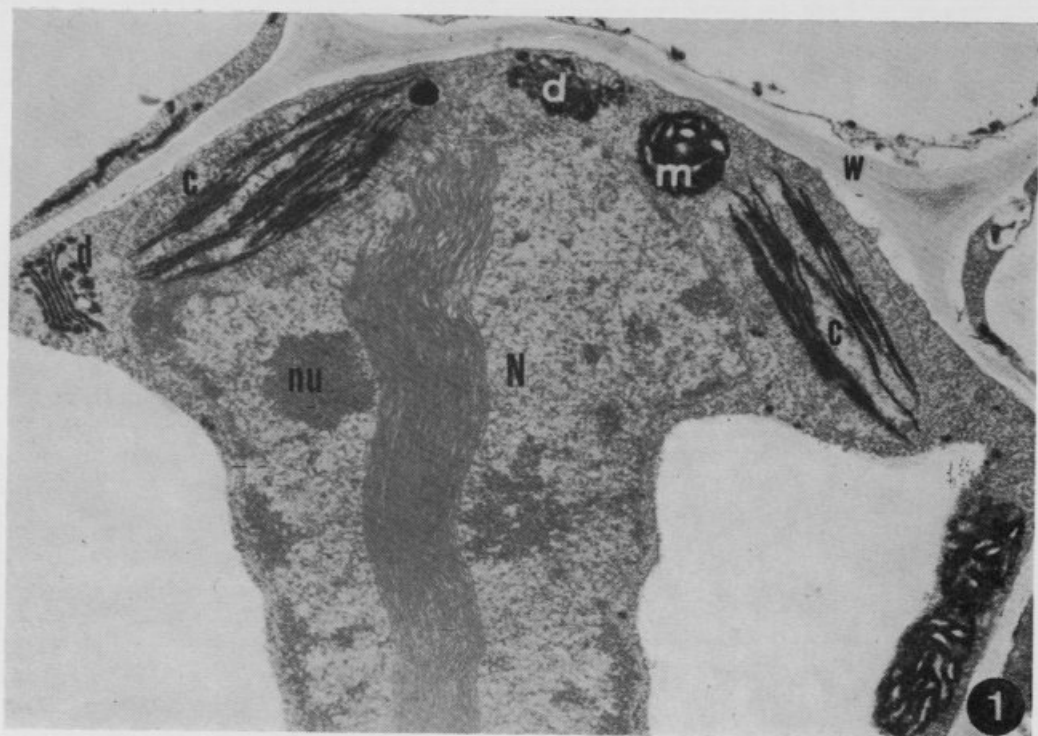
Bc	— base cell
C	— chloroplast
d	— dictyosome
ER	— endoplasmic reticulum
m	— mitochondria
N	— nucleus
nu	— nucleolus
pl	— plastid
ps	— perinuclear space
SC	— secretory cell
SP	— tonoplast
v	— vacuole
w	— cell wall

PLATE I

*Mixture ZnI<sub>2</sub>-OsO<sub>4</sub>*

- Fig. 1. — Mesophyll cell. The photosynthetic apparatus of the chloroplasts, the mitochondrial stroma and the dicytosomes appear strongly impregnated. Note that, exceptionally, all cisternae of the dictyosomes are stained (see the text).  $\times 25\ 200$ .
- Fig. 2. — Two adjacent sub-epidermic cells. In one of them (above), the endomembranous compartment, including the nuclear space, is well marked, whereas in the other cell (bellow) evident reactivity can not be observed.  $\times 12\ 600$ .
- Fig. 3. — Three contiguous parenchymatic cells showing reactive and not reactive chloroplasts and vacuoles  $\times 25\ 200$ .





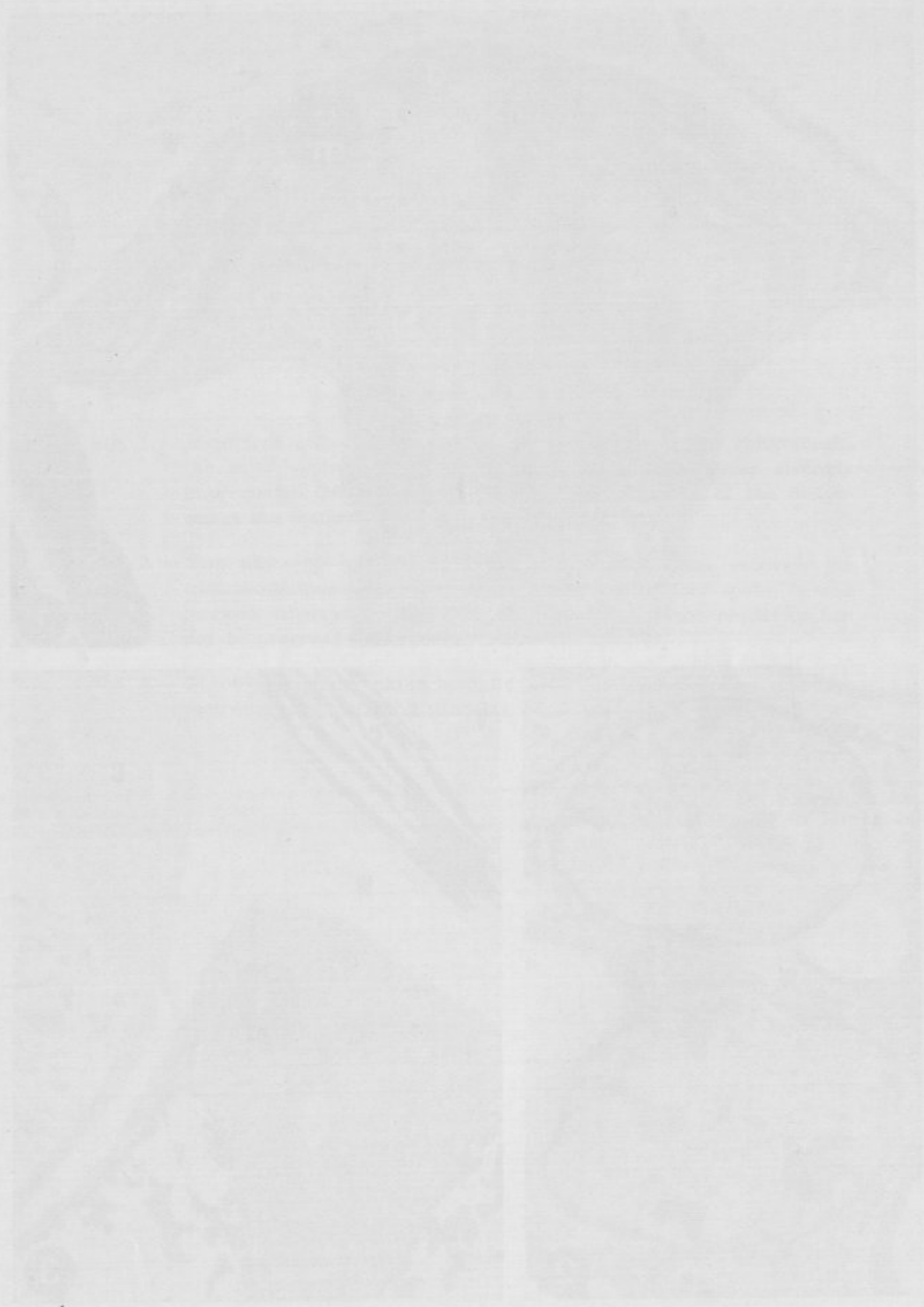


PLATE II

PLATE II

PLATE II  
PLATE II

PLATE II  
PLATE II

PLATE II  
PLATE II

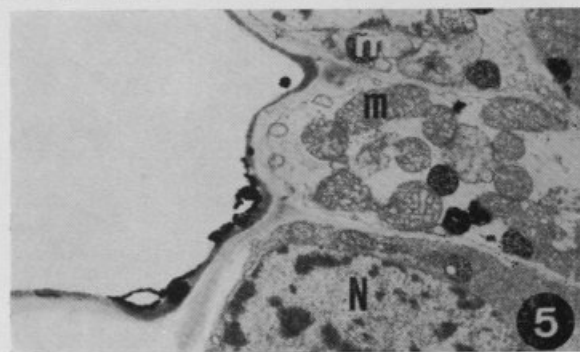
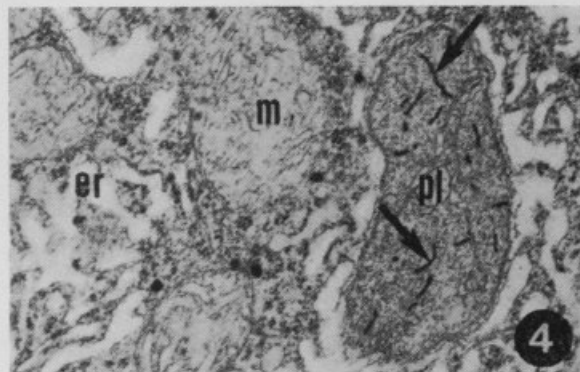
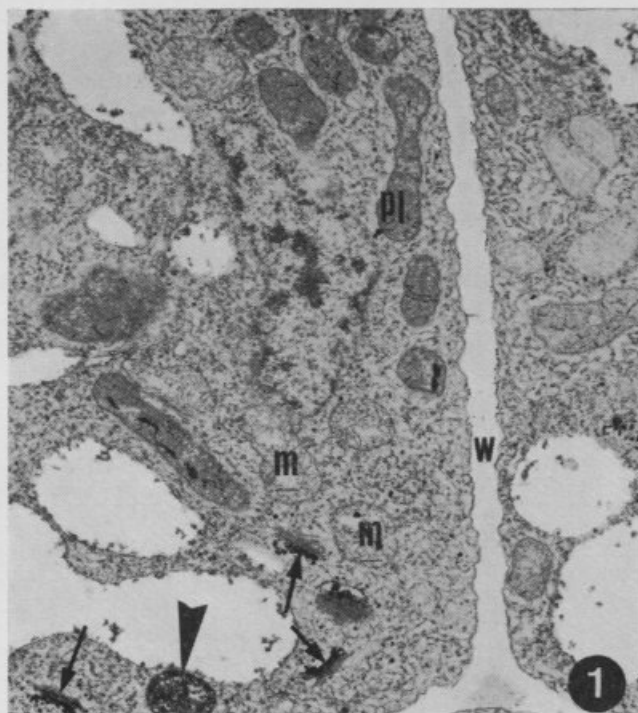
PLATE II  
PLATE II

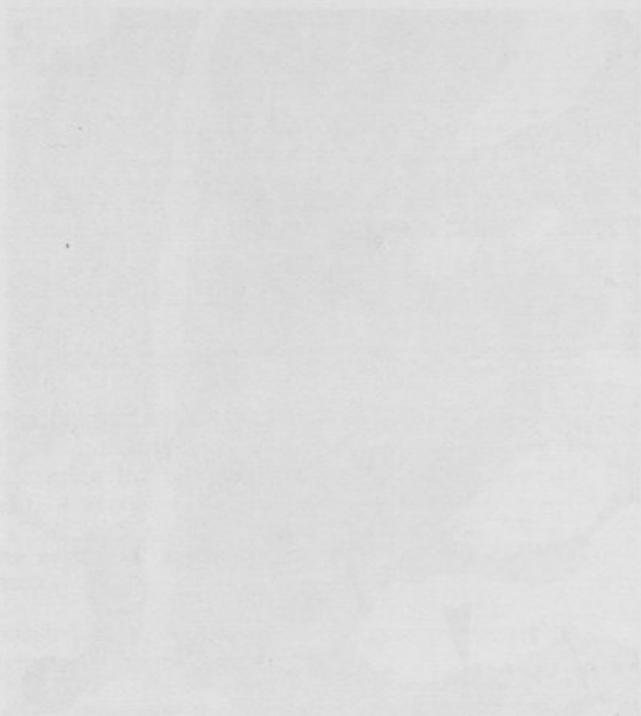
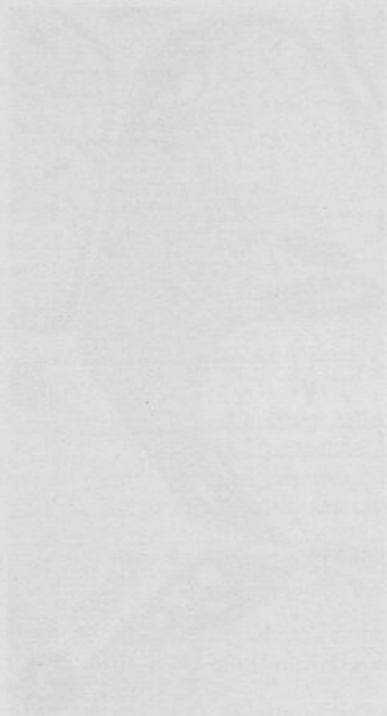
PLATE II  
PLATE II

PLATE II

*Mixture ZnI<sub>2</sub>-OsO<sub>4</sub>*

- Fig. 1. — Secretory cells. The tubular invaginations of the plastidal envelope, the cisternae of the proximal pole of the dictyosomes (arrows) are reactive. Concerning the mitochondria, only a profile appears stained (arrowhed).  $\times 11\ 000$ .
- Fig. 2. — Mesophyll. In the same cell there are reactive and not reactive chloroplasts.  $\times 6600$ .
- Fig. 3. — Trichome cells. Electrodense deposit on the dictyosomes (left cell) and vacuoles (right cell) can be seen.  $\times 12\ 600$ .
- Fig. 4. — Partial view of a secretory cell. Some tubular invaginations of the plastidal envelope are impregnated (arrows). Note the absence of any reactivity in the mitochondria.  $\times 30\ 800$ .
- Fig. 5. — Remark the coexistence of reactive and not reactive mitochondria in the same cell.  $\times 6700$ .





## PLATE III

PLATE III

This plate shows a series of views of the same object, illustrating the effect of the different parts of the apparatus. The views are arranged in a regular order, and the object is shown in a variety of positions. The views are arranged in a regular order, and the object is shown in a variety of positions. The views are arranged in a regular order, and the object is shown in a variety of positions.

PLATE III

*Mixture ZnI<sub>2</sub>-OsO<sub>4</sub>*

Fig. 1. — General view of secretory cells of a capitate-stalked gland. The staining is very clear at the level of dictyosomes and some mitochondria.  $\times 11\ 000$ .

Fig. 2. — Detail of fig. 1. Remark that are the cisternae of the forming face of the dictyosomes and the mitochondrial stroma which appear impregnated.  $\times 30\ 800$ .



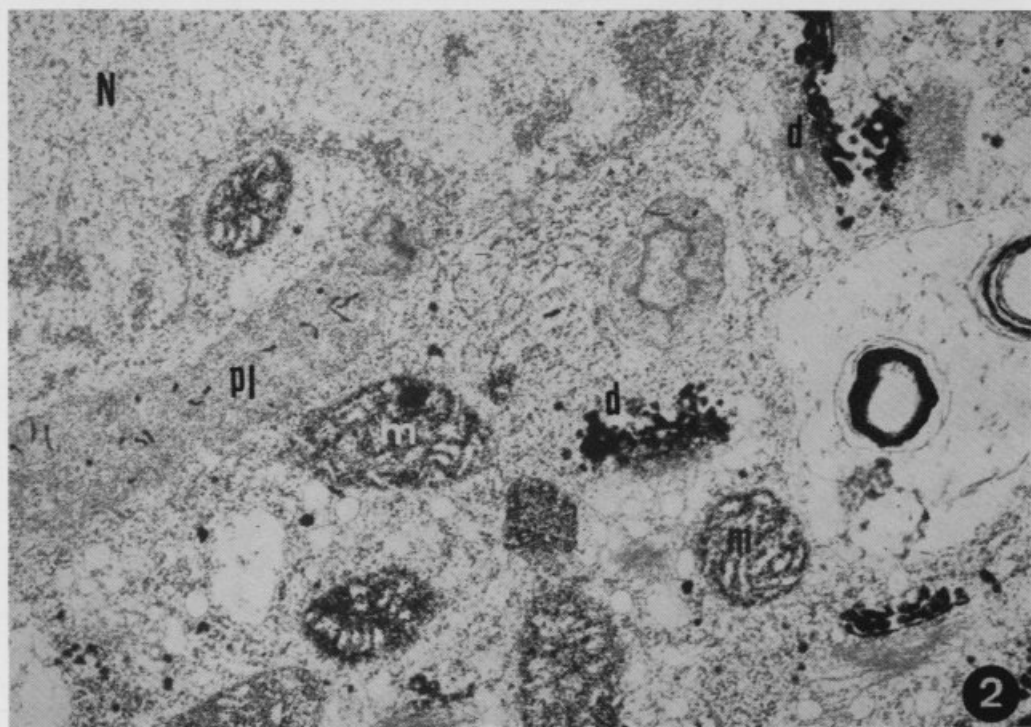
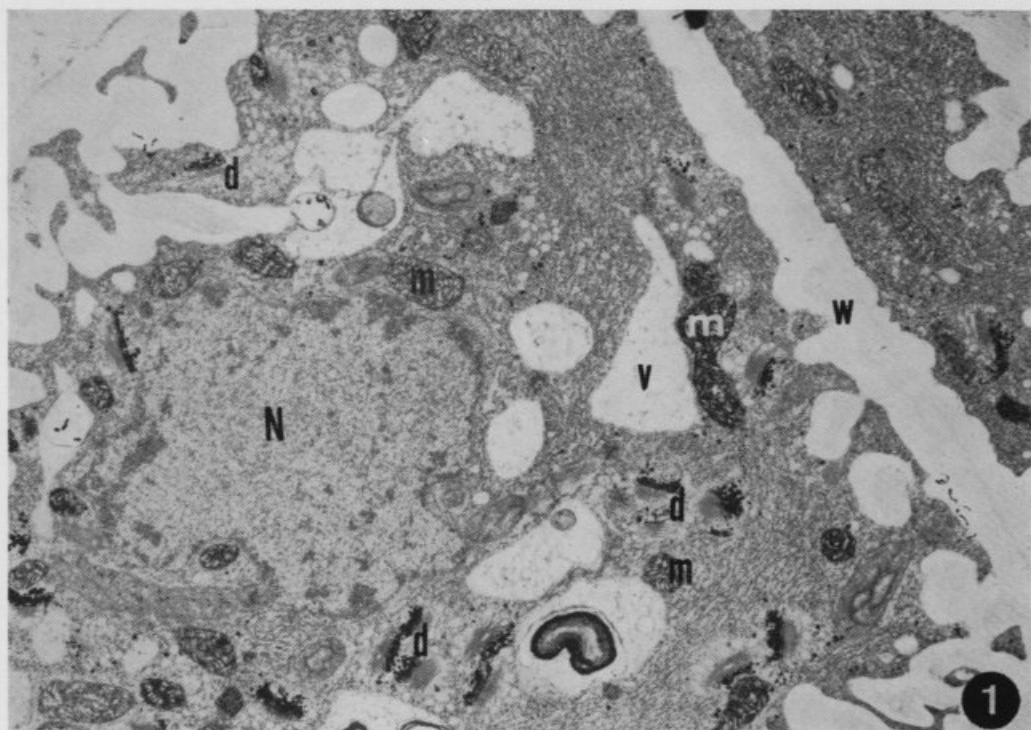




PLATE IV

PLATE IV

The following figures show the results of the investigation into the  
 effect of the various factors on the rate of the reaction between  
 the various components of the system. The results are given in  
 the following table.

Table I shows the results of the investigation into the  
 effect of the various factors on the rate of the reaction between  
 the various components of the system. The results are given in  
 the following table.

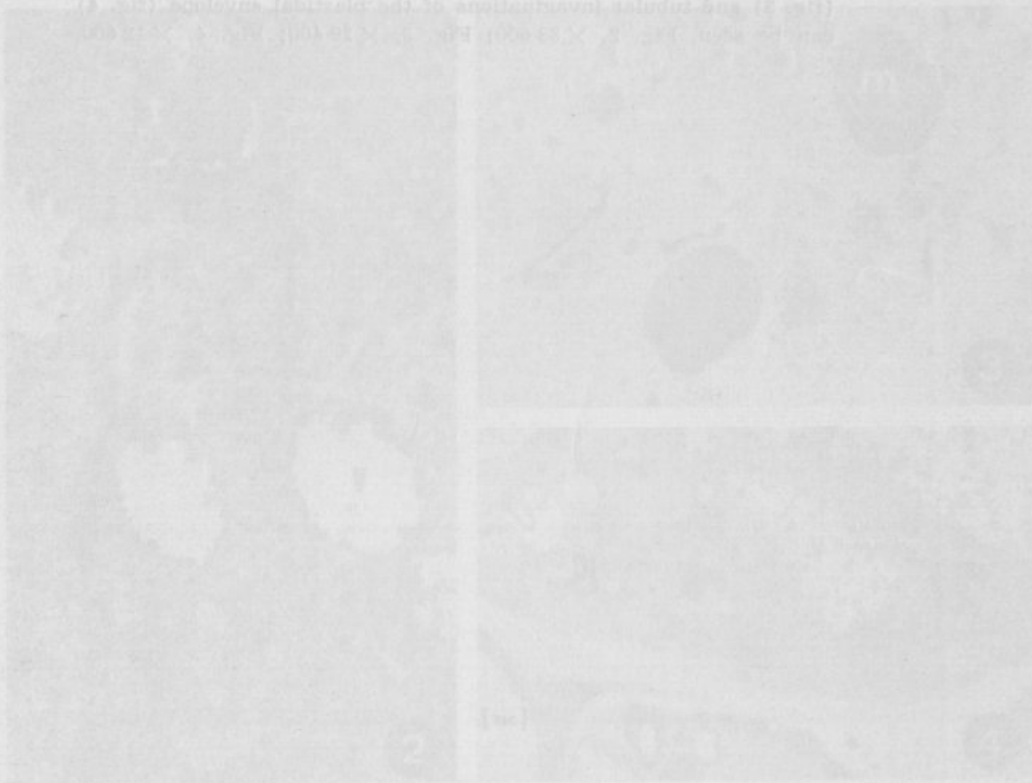
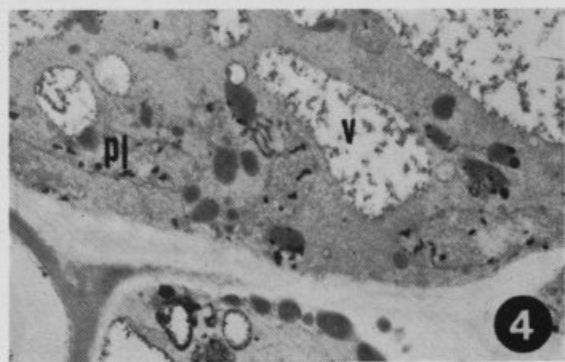
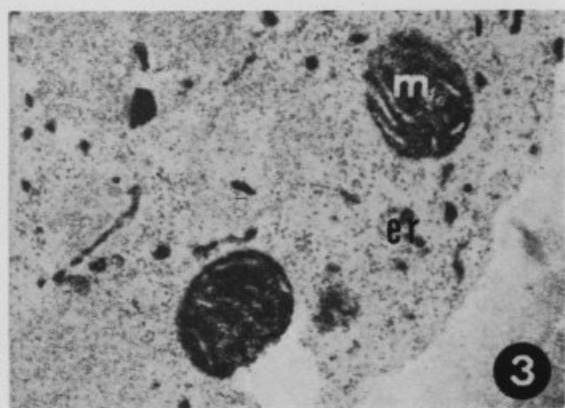
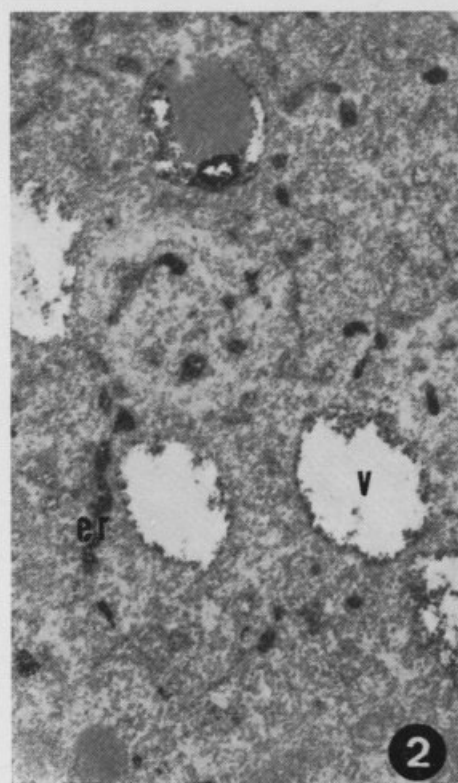
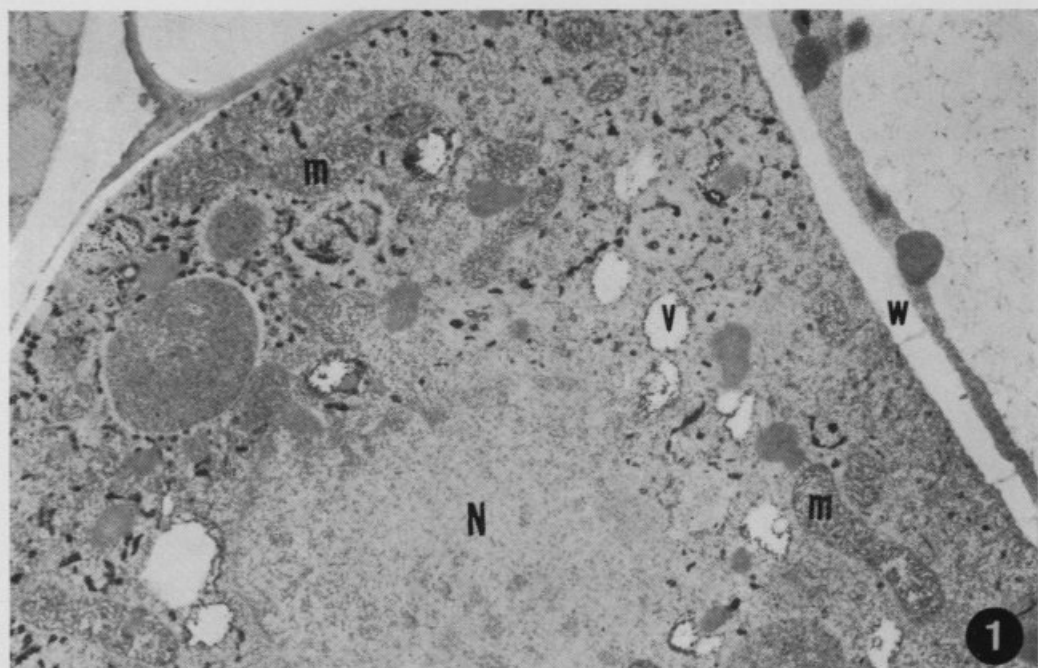


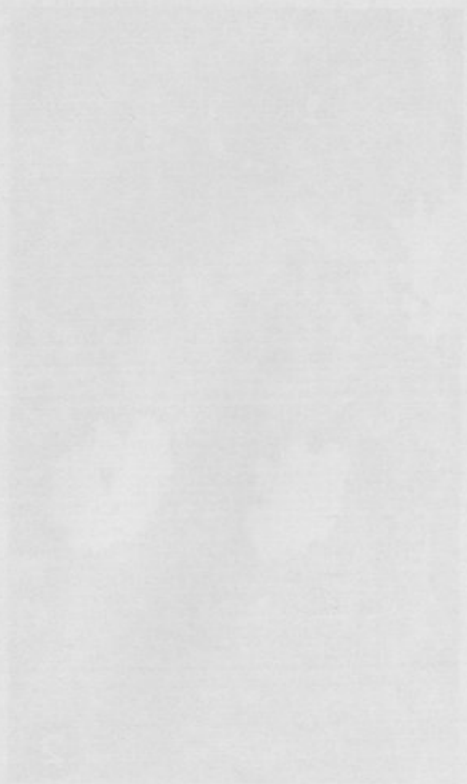
PLATE IV

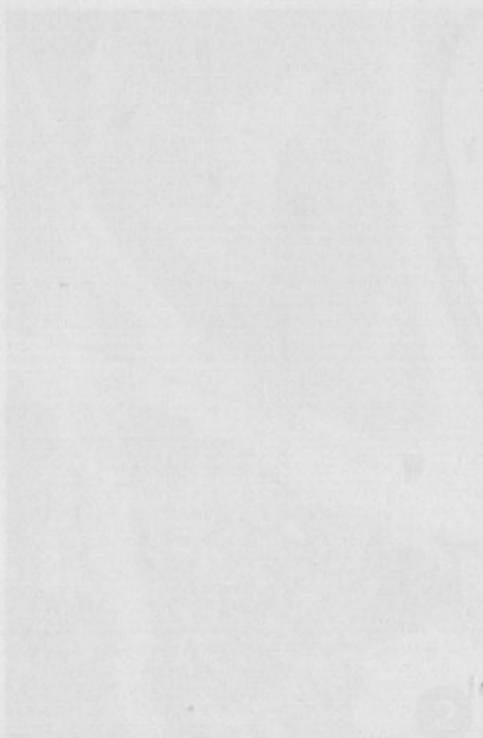
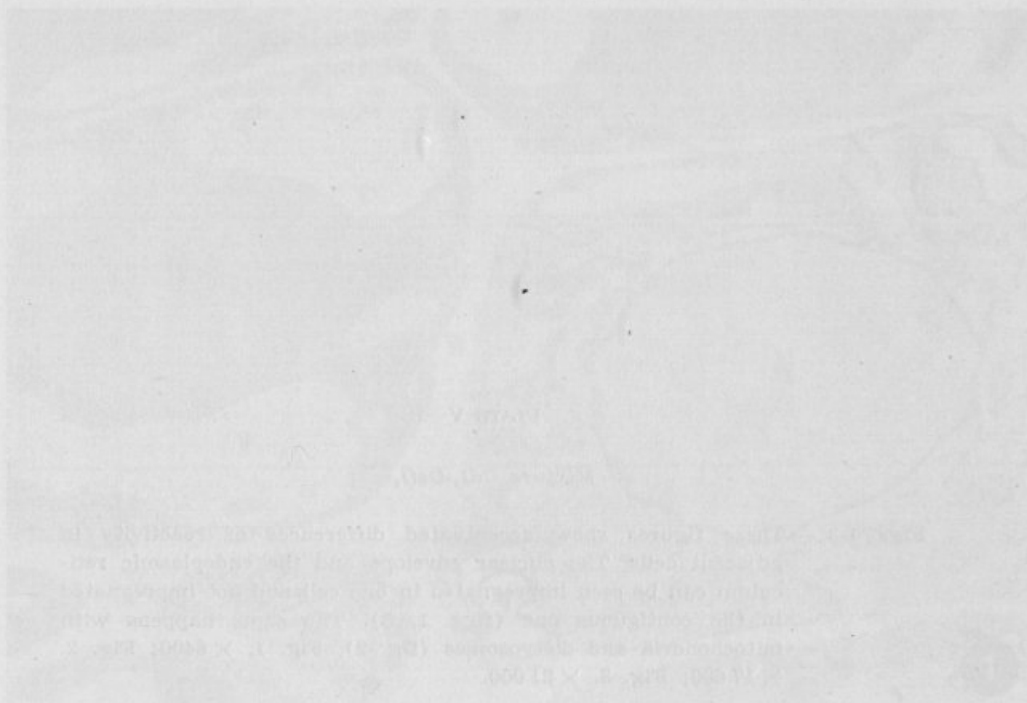
*Mixture KI-OsO<sub>4</sub>*

Fig. 1. — Cell of the secretory head of a gland, showing different impregnation degrees of the endoplasmic reticulum, mitochondria and vacuoles.  $\times 12\ 600$ .

Figs. 2-4. — Details about the reactivity of secretory cells: a strong impregnation of the endoplasmic reticulum (figs. 2, 3), mitochondrial stroma (fig. 3) and tubular invaginations of the plastidal envelope (fig. 4) can be seen. Fig. 2.  $\times 33\ 600$ ; Fig. 3.  $\times 29\ 400$ ; Fig. 4.  $\times 12\ 600$ .







[illegible]

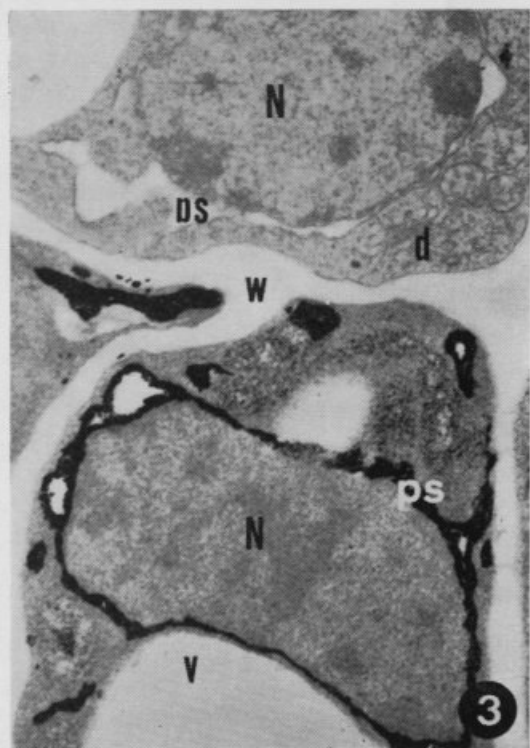
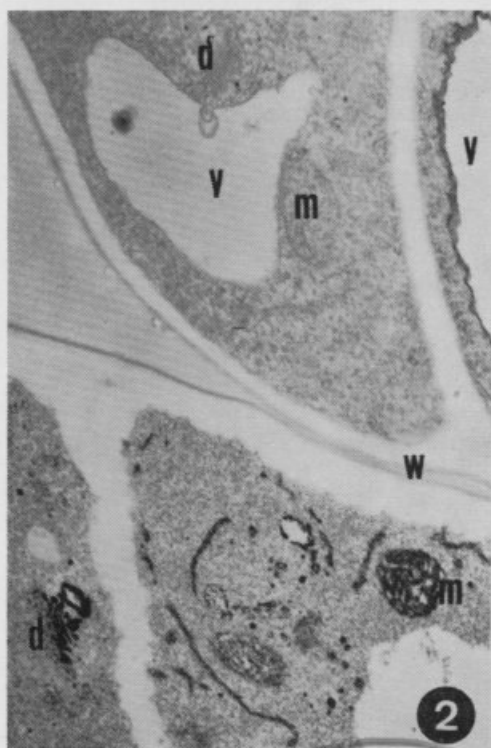
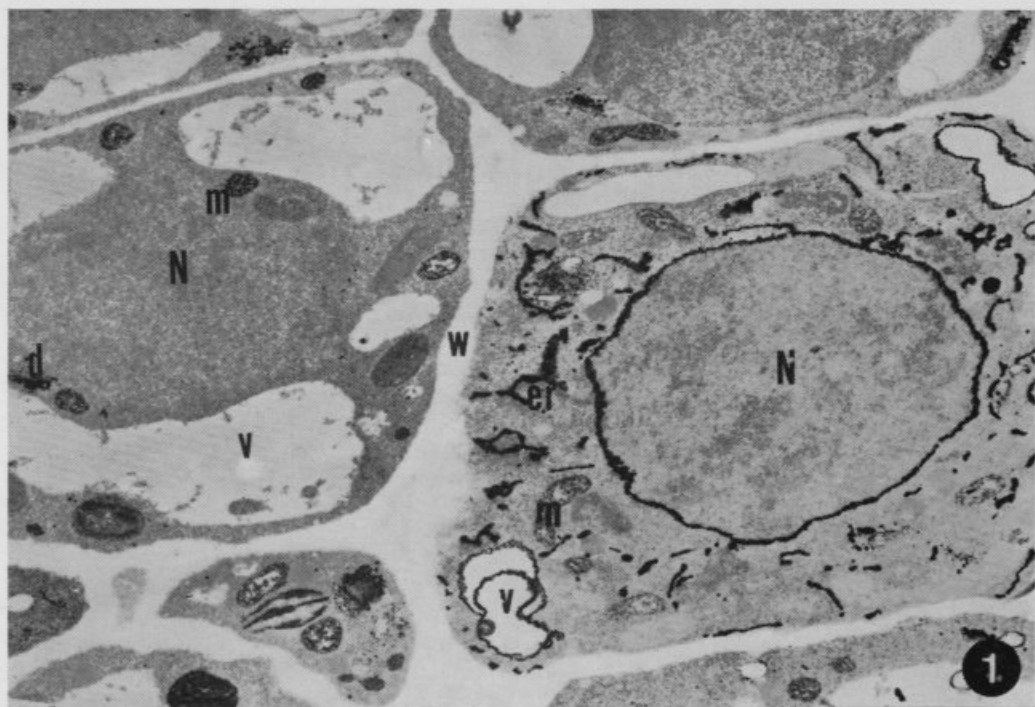


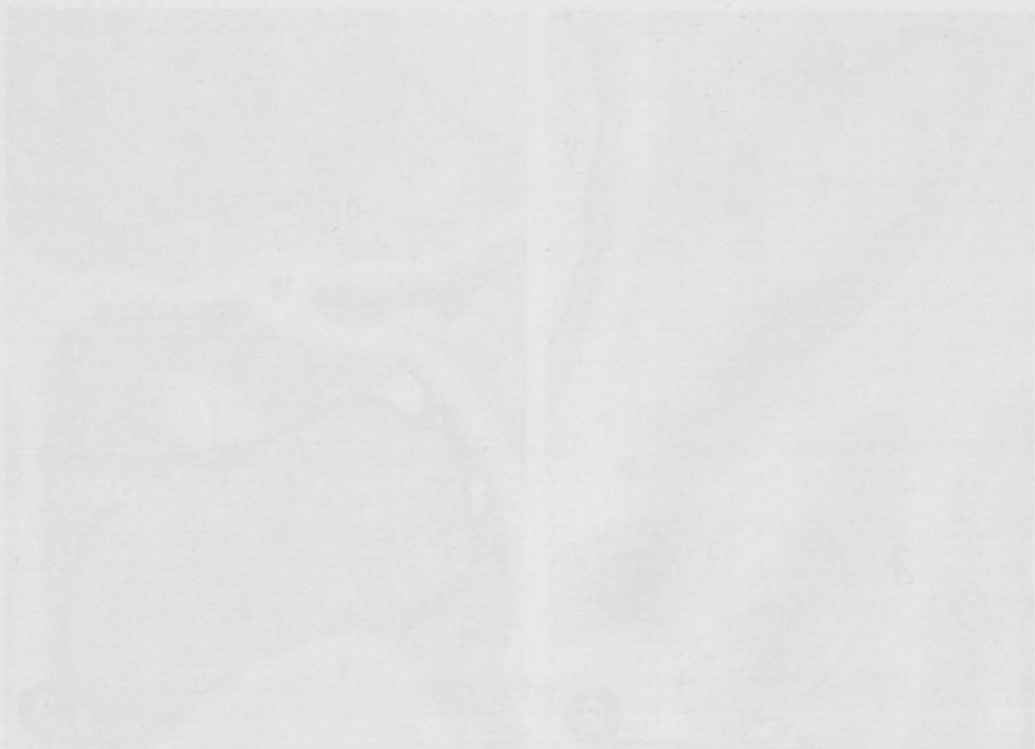
PLATE V

*Mixture CdI<sub>2</sub>-OsO<sub>4</sub>*

Figs. 1-3. — These figures show accentuated differences of reactivity in adjacent cells. The nuclear envelope and the endoplasmic reticulum can be seen impregnated in one cell and not impregnated in the contiguous one (figs. 1, 3). The same happens with mitochondria and dictyosomes (fig. 2). Fig. 1.  $\times 8400$ ; Fig. 2.  $\times 17\ 600$ ; Fig. 3.  $\times 21\ 000$ .







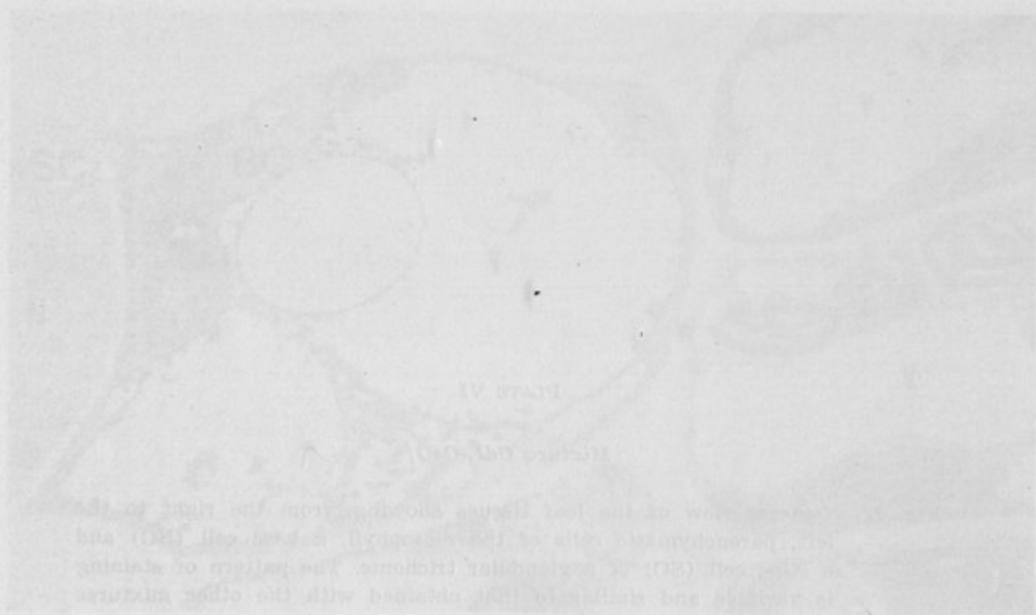


PLATE VI

MIRAZZI (1850)

... of the leaf ... from the ...  
 ... of the leaf ... and  
 ... of the leaf ... the pattern of ...  
 ... and ... with the other ...

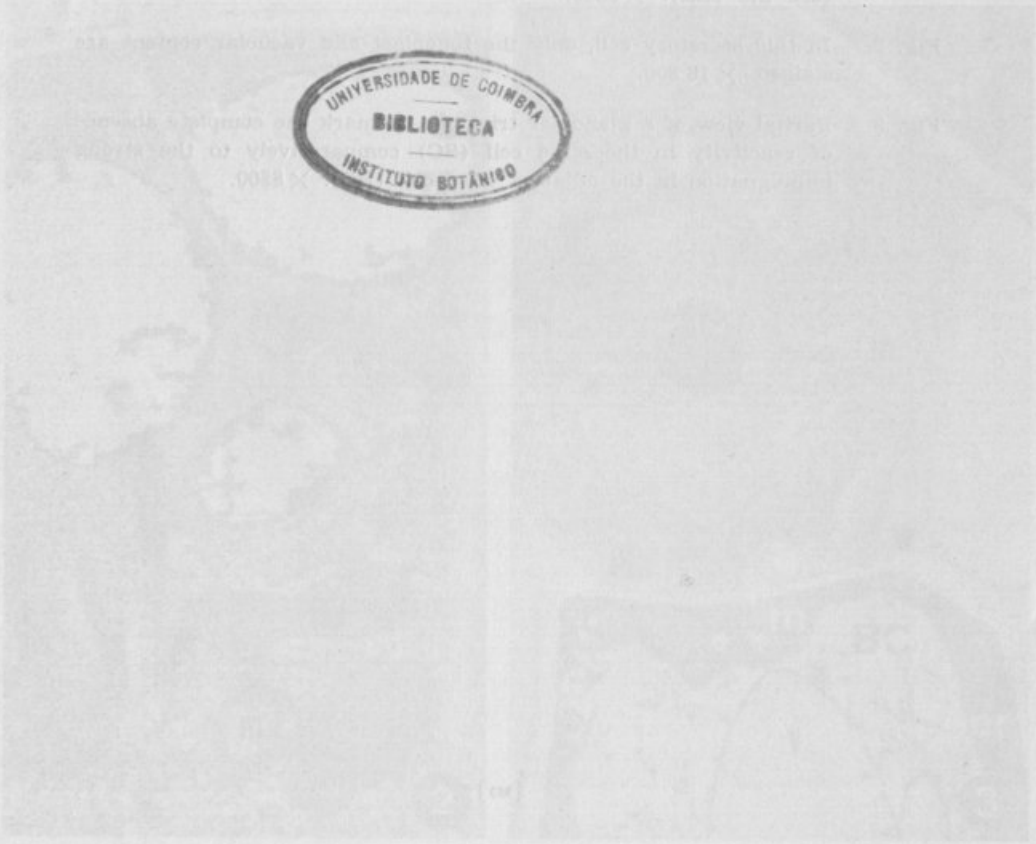
(see the text) p. 500



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

BIBLIOTECA

INSTITUTO BOTÂNICO



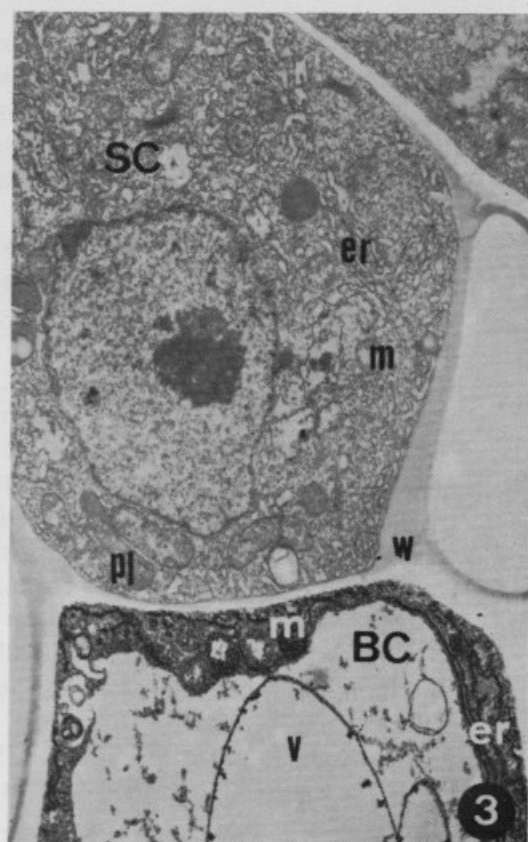
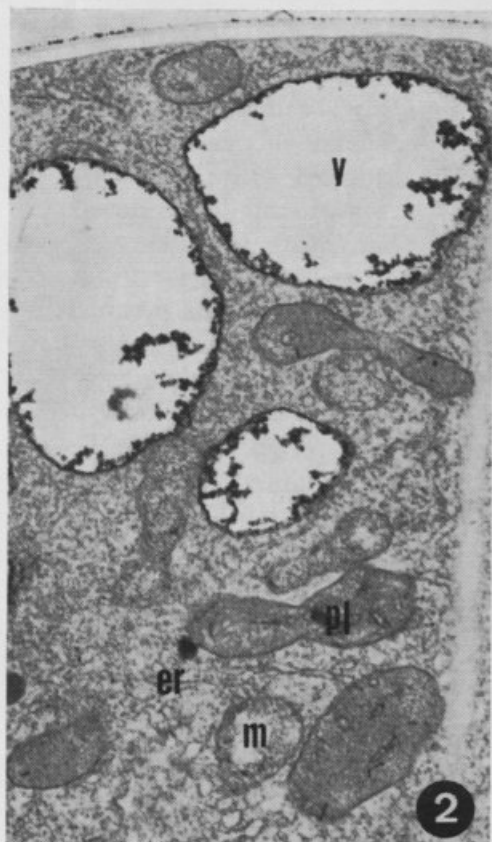
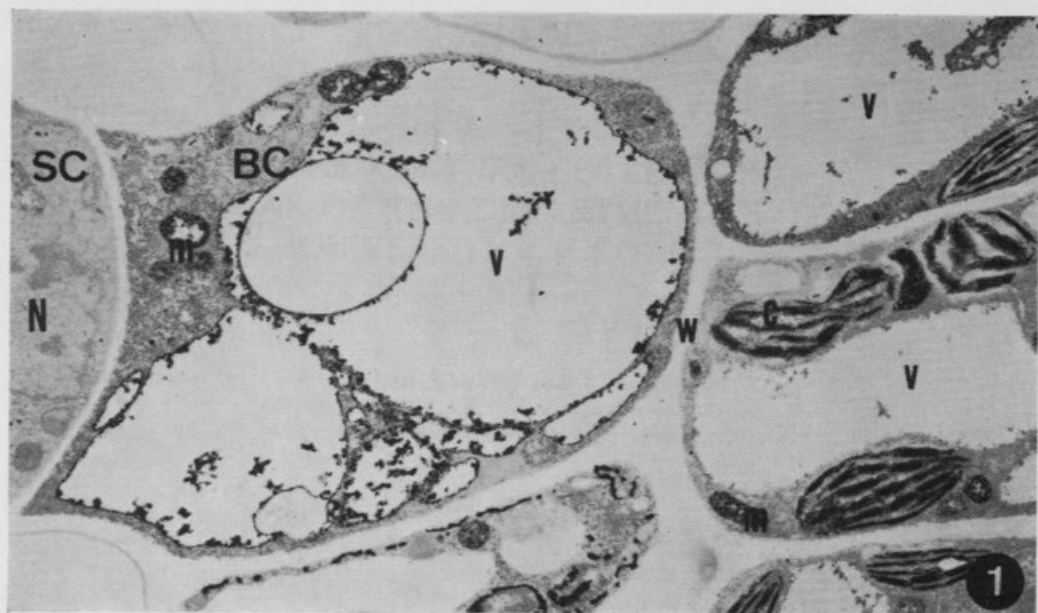
BC

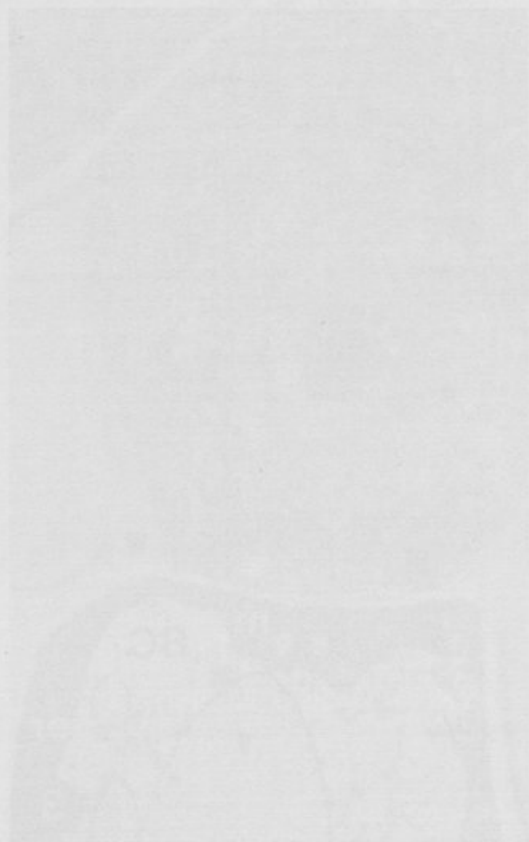
[unintelligible]

PLATE VI

*Mixture CdI<sub>2</sub>-OsO<sub>4</sub>*

- Fig. 1.—General view of the leaf tissues showing, from the right to the left, parenchymatic cells of the mesophyll, a base cell (BC) and a stipe cell (SC) of a glandular trichome. The pattern of staining is variable and similar to that obtained with the other mixtures (see the text).  $\times 8800$ .
- Fig. 2.—In this secretory cell, only the tonoplast and vacuolar content are stained.  $\times 16\ 800$ .
- Fig. 3.—Partial view of a glandular trichome. Remark the complete absence of reactivity in the stipe cell (SC) comparatively to the strong impregnation in the adjacent base cell (BC).  $\times 8800$ .





THE CULTURE COLLECTION  
OF ALGAE OF THE DEPARTMENT OF BOTANY  
UNIVERSITY OF COIMBRA

by

M. FÁTIMA SANTOS and J. F. MESQUITA

Department of Botany — Laboratory of Electron Microscopy  
and Phycology — University of Coimbra — Coimbra — Portugal

Received December 19, 1986.

PREAMBLE

**E**VEN not mentioning the archipelags of Açores and Madeira, Portugal has excellent conditions for the development of biological studies of the aquatic environment, both for its numerous rivers and the extensive atlantic coast. As it is known, these studies, apart from its scientific interest, can have a great economical importance.

Unfortunately, the inventory of our phycological flora is still very incomplete and fragmentary (FÁTIMA SANTOS and MESQUITA, 1981). Nevertheless, in reference to our Department, it is worthwhile, as from the 1940's the important contribution given in this matter by F. S. LACERDA, MESQUITA RODRIGUES, PÓVOA DOS REIS, ALMEIDA RINO and FÁTIMA SANTOS (FÁTIMA SANTOS & MESQUITA, 1981). Excepting some revision works, involving «excicata» material, namely of *Phaeophyceae* (M. RODRIGUES, 1963), the determinations of the taxa were carried out almost always on material not isolated neither cultured in the laboratory. This implied, obviously, the loss of the species harvested and identified.

In the first years of the 1970's, one of the authors (J. F. MESQUITA) who, for some years ago, was teaching and making research in cell ultrastructure of higher plants, thought that would be interesting extend this study to the algae, using, whenever possible, material from our country.

For this, it was necessary to modify the current method which was used in the taxonomic works, as the isolation and culture of the identified specimens, it is an indispensable practice for the cytological studies. With this objective, we supervise the construction of a culture chamber in the Department and... as this «was born the Algoteca».

Actually, this «Algoteca» with the Laboratory of Electron Microscopy form one sector of the Botanical Institute of the University of Coimbra where, under the guidance of Prof. J. F. MESQUITA, ultrastructural studies in plant cells, «in latum sense», are carried out. In the area of Phycology, as we are referring in this Note, M. FÁTIMA SANTOS, apart from arduous work which was the determination of the taxa of the present collection, she has also collaborated with us in cytological studies (MESQUITA and col., 1976, 1978, 1980, 1981, 1983, 1984, 1986) sometimes with the contribution of J. SANTOS DIAS.

As we can see in the following list, the collection has actually 167 taxa (species and varieties) distributed by 4 Divisions, 8 Classes, 22 Orders and 102 Genres. We think therefore that has arrived the adequate moment to begin the exchange with national or foreign Institutions interested in to make research in this area. We are trying to obtain more axenic cultures. In this moment, only those signalized with *A* are in these conditions.

To the Departments interested in this mater, the material will be sent without charge excepting the expenses of packing and mail.

Simultaneously, we would like to receive the list correspondent to the collection which eventually exists in those Departments. We pretend to estimulate an exchange we think it is useful for both Institutions.

The requests should be adressed to:

Department of Botany

Laboratory of Electron Microscopy and Phycology

University of Coimbra

3049 Coimbra

PORTUGAL

Prof. J. F. MESQUITA



THE CULTURE COLLECTION

1. INDEX

D. CYANOPHYTA

Cl. — Cyanophyceae

  Scl. — Coccogonophycidae

    Ord. — Chroococcales

      Aphanothece  
      Chlorogloea  
      Chroococcus  
      Eucapsis  
      Synechocystis

    Ord. — Chamaesiphonales

      Chamaesiphon

    Ord. — Pleurocapsales

      Chroococopsis

  Scl. — Hormogonophycidae

    Ord. — Nostocales

      Anabaena  
      Cylindrospermum  
      Fortia  
      Gloeotrichia  
      Nodularia  
      Nostoc  
      Oscillatoria  
      Phormidium  
      Pseudanabaena  
      Tolypothrix

D. EUGLENOPHYTA

Cl. — Euglenophyceae

  Ord. — Euglenales

    Euglena

## D. CHROMOPHYTA

## Cl. — Xanthophyceae

## Ord. — Mischococcales

Botrydiopsis  
 Mischococcus  
 Ophiocythium

## Ord. — Tribonematales

Bumilleria  
 Heterothrix  
 Tribonema

## Cl. — Eustigmatophyceae

Pleurochloris

## Cl. — Chrysophyceae

## Scl. — Heterochrysophycidae

## Ord. — Chromulinales

Chrysocapsa

## Cl. — Diatomophyceae

## Scl. — Centrophycidae

## Ord. — Coscinodiscales

Cyclotella

## Scl. — Pennatophycidae

## Ord. — Diatomales

Synedra

## Ord. — Eunotiales

Eunotia

## Ord. — Naviculales

Gomphonema  
 Navicula  
 Nitzschia  
 Rhopalodia

D. CHLOROPHYTA

Cl. — Chlorophyceae

Scl. — Chlorophycidae

Ord. — Volvocales

Carteria  
Chlamydomonas  
Gonium  
Haematococcus  
Pandorina

Ord. — Tetrasporales

Apicystis  
Asterococcus  
Chaetopeltis  
Nautococcus

Ord. — Chlorococcales

Actinastrum  
Ankistrodesmus  
Botryococcus  
Botryosphaerella  
Characium  
Chlorella  
Chlorobion  
Coelastrella  
Coelastrum  
Coenochloris  
Crucigenia  
Dictyosphaerium  
Dimorphococcus  
Fusola  
Glaucocystis  
Halochlorococcum  
Kirchneriella  
Lagerheimia  
Micractinium  
Monoraphidium  
Myrmecia  
Neochloris  
Oocystis  
Oonephris  
Pediastrum  
Planktosphaeria

Pseudocharacium  
 Pseudococcomyxa  
 Scenedesmus  
 Sorastrum  
 Tetradron

Scl. — Ulothricophycidae

Ord. — Ulothricales

Chlorhormidium  
 Geminella  
 Stichococcus

Ord. — Ulvales

Schizomeris  
 Trichosarcina

Ord. — Chlorosarcinales

Chlorosarcinopsis  
 Chlorosphaeropsis  
 Fernandinella

Ord. — Chaetophorales

Apatococcus  
 Aphanochaete  
 Chamaetrichon  
 Coccobotrys  
 Coleochaete  
 Draparnaldia  
 Microthamnion  
 Pleurastrum  
 Protoderma  
 Stigeoclonium

Scl. — Oedogoniophycidae

Ord. — Oedogoniales

Oedogonium

Cl. — Zygomyceteae

Ord. — Zygnematales

Fam. — Zygnemataceae

Zygnemopsis

Fam. — Mesotaeniaceae

- Cylindrocystis
- Mesotaenium
- Netrium
- Spirotaenia

Ord. — Desmidiiales

Fam. — Closteriaceae

- Closterium

Fam. — Desmidiaceae

- Cosmarium
- Pleurotaenium
- Staurastrum
- Tellingia