





## ANÁLISIS MOLECULARES Y OBSERVACIONES MORFO-ANATÓMICAS DE *CHEILANTHES VOLCANENSIS* (PTERIDACEAE) DEFINEN SUS RELACIONES DENTRO DE LA SUBFAMILIA CHEILANTHOIDEAE EN SUDAMÉRICA

M. Mónica Ponce<sup>1</sup> , M. Amalia Scataglini<sup>1\*</sup> , Marcela A. Hernández<sup>2</sup>   
& Olga G. Martínez<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Instituto de Botánica Darwinion, Labardén 200, B1642HYD San Isidro, Buenos Aires, Argentina; \*ascataglini@darwin.edu.ar (autora correspondiente).

<sup>2</sup> Fundación Miguel Lillo, M. Lillo 251, T4000JFE San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Naturales – IBIGEO-CONICET, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150, A4408FVL Salta, Salta, Argentina.

**Abstract.** Ponce, M. M.; M. A. Scataglini, M. A. Hernández & O. G. Martínez. 2023. Molecular analysis and morpho-anatomical observations of *Cheilanthes volcanensis* (Pteridaceae) define its relationships within the Cheilanthesoideae subfamily in South America. *Darwiniana*, nueva serie 11(1): 101-114.

The circumscription of the genus *Cheilanthes* Sw. is supported by molecular and morphological characters; nevertheless, the taxonomic status of some species remains uncertain because they have not been molecularly tested yet. This study analyzes the belonging of *Cheilanthes volcanensis* de la Sota to this genus, since this species was treated with doubts about its generic identity. From a morphological approach, *C. volcanensis* is close to *Cheilanthes* species with pentagonal and highly divided leaf blades; petioles and rachises castaneous to black, glabrous, usually grooved adaxially; features that are also largely representative of the morphological circumscription of the genus *Gaga* Pryer, F.W. Li & Windham. The molecular analysis of a recent collection, identified a priori as *C. volcanensis*, demonstrated with high support that the species belongs to the genus *Cheilanthes* s. str., as was described originally. Finally, morpho-anatomical observations of this species and related species are also provided, which support its phylogenetic position and contribute to the correct generic delimitation of *Cheilanthes* s. str.

**Keywords.** *Cheilanthes*; *Gaga*; *matK*; morpho-anatomy; phylogeny; *rbcL*.

**Resumen.** Ponce, M. M.; M. A. Scataglini, M. A. Hernández & O. G. Martínez. 2023. Análisis moleculares y observaciones morfo-anatómicas de *Cheilanthes volcanensis* (Pteridaceae) definen sus relaciones dentro de la subfamilia Cheilanthesoideae en Sudamérica. *Darwiniana*, nueva serie 11(1): 101-114.

La circunscripción del género *Cheilanthes* Sw. está apoyada en caracteres moleculares y morfológicos; sin embargo, el estatus taxonómico de algunas especies permanece incierto debido a que aún no han sido testeadas molecularmente. Este trabajo analiza la ubicación taxonómica de *Cheilanthes volcanensis* de la Sota dentro de este género, ya que esta especie fue tratada con dudas respecto a su identidad genérica. Desde el punto de vista morfológico, *C. volcanensis* es afín a las especies de *Cheilanthes* con hojas de láminas pentagonales, altamente divididas; pecíolos y raquis castaños a negros, glabros, y por lo común, surcados adaxialmente, características que son en gran medida representativas de la circunscripción morfológica del género *Gaga* Pryer, F.W. Li & Windham. El análisis molecular de una reciente colección, identificada a priori como *C. volcanensis*, demostró con un alto apoyo, que la especie pertenece al género *Cheilanthes* s. str., tal como fue descrita originalmente. Por último, se proveen observaciones morfo-anatómicas de *C. volcanensis* y de las especies afines que apoyan dicha posición filogenética, y que, además, contribuyen a la correcta delimitación genérica de *Cheilanthes* s. str.

**Palabras clave.** *Cheilanthes*; filogenia; *Gaga*; *matK*; morfo-anatomía; *rbcL*.

## INTRODUCCIÓN

*Cheilanthes* Sw. (Cheilanthoideae, Pteridaceae) es un género con distribución cosmopolita (Tryon et al., 1990) descrito hace más de 200 años. En un principio, la delimitación del género fue basada en características morfológicas extremadamente variables, tanto que se superponían con las de los géneros afines, lo cual redundó en la inclusión de más de 150 especies. En los últimos 30 años, el uso de secuencias de ADN para análisis filogenéticos permitió la segregación de nuevos géneros cheilanthoides, así como la rehabilitación de otros descriptos antiguamente, ya sea neotropicales como *Adiantopsis* Fée (Link-Pérez et al., 2011; Ponce & Scataglini, 2012), *Gaga* Pryer, F.W. Li & Windham (Li et al., 2012) y *Myriopteris* Fée (Grusz & Windham, 2013), o paleotropicales como *Aleuritopteris* Fée y *Oeosporangium* Vis. (Zhang et al., 2013; Fraser-Jenkins, 2016; Fraser-Jenkins et al., 2016[2017]), dejando a *Cheilanthes* con aproximadamente 100 especies a nivel mundial (PPG I, 2016).

Los últimos tratamientos taxonómicos sobre el género, que incluyen casi la totalidad de las especies sudamericanas, basados en análisis filogenéticos moleculares y en caracteres morfológicos y reproductivos (Ponce & Scataglini, 2018, 2020), proponen que *Cheilanthes* s. str. estaría formado por 70 especies divididas en tres clados: uno de Australasia + Sudamérica, conteniendo a la especie tipo *C. micropteris* Sw., otro africano, y el restante de distribución exclusivamente sudamericana. Sin embargo, algunas de las especies sudamericanas aún permanecen en una posición taxonómica incierta, debido principalmente a su convergencia morfológica y a la falta de evidencias moleculares.

Uno de estos casos, es el de *Cheilanthes volcanensis* de la Sota, especie poco frecuente, restringida al noroeste de la Argentina y Bolivia, que fue descrita en 1972 basándose principalmente en material coleccionado a principios del siglo XX. Con excepción de un ejemplar coleccionado en 1978, la especie recién volvió a ser hallada en el año 2020, en pastizales de altura de la provincia de Salta, en el noroeste de Argentina.

En cuanto a su morfología externa, *C. volcanensis* posee láminas de contorno pentagonal, 2-pinnadas-pinnatifidas o 3(-4)-pinnadas, ejes

de color castaño-oscuro, brillantes, glabros, y surcados adaxialmente. Asimismo, estas características constituyen atributos importantes para la delimitación morfológica del género *Gaga*, que fue segregado de *Cheilanthes* s. str. principalmente por sus diferencias moleculares (Li et al., 2012). Otras especies sudamericanas de *Cheilanthes*, como por ejemplo *C. hieronymi* Herter, *C. glauca* (Cav.) Mett. y *C. rufopunctata* Rosenst., también presentan tipos de láminas y ejes similares a los descriptos para *C. volcanensis* y *Gaga*, pero los análisis moleculares mostraron que tanto *C. hieronymi*, como *C. glauca* y *C. rufopunctata* no son cercanas a *Gaga* y se ubican dentro del clado de *Cheilanthes* s. str. (Ponce & Scataglini, 2016, 2018, 2020).

En el aspecto anatómico, las especies sudamericanas de *Cheilanthes* s. str. presentan raíces con corteza parenquimática homogénea y con un periciclo de 2-3 capas; los ejes son teretes a semiteretes, a veces con extensiones laterales como aristas o alas, con corteza parenquimática formada por células de paredes engrosadas, a veces con sectores de esclerénquima. Dentro del cilindro vascular, el xilema generalmente es monoxilar siendo las formas más comunes en “V”, “U”, “X” e “Y”, a menudo se presenta dixilar en la base del pecíolo (Hernández & Albornoz, 2001; Hernández, 2019). Las esporas son triletes con una ornamentación del perisporio del tipo rugulado, crestado, reticulado o equinulado (Tryon & Lugardon, 1991; Morbelli & Ponce, 1997). Algunas de estas características anatómicas (e. g. el periciclo de 2-3 capas, y la corteza de los ejes con sectores de esclerénquima) y palinológicas (e. g. el perisporio rugulado-crestado) también se encuentran en *G. marginata* (Kunth) F.W. Li & Windham, la única especie que crece en el Cono Sur de Sudamérica del género (Li et al., 2012), y que, además, es simpátrica con *C. volcanensis*.

Dado que algunas especies de *Cheilanthes* y *Gaga* comparten una alta afinidad morfológica, y que, además, ciertas características anatómicas y palinológicas presentes en *Cheilanthes* se encuentran en *G. marginata*, la asignación genérica de *C. volcanensis* ha permanecido incierta hasta la actualidad (Ponce, 2016), debido a la falta de un análisis anatómico y filogenético de la especie.

En línea con lo expuesto, el objetivo de este trabajo es testear la ubicación taxonómica de *C. volcanensis* dentro del género *Cheilanthes* s. str., mediante secuencias de ADN obtenidas a partir de una reciente colección de la especie proveniente de la provincia de Salta (Argentina). Además, y sobre la base de estos resultados moleculares, se realizó un análisis morfo-anatómico de la especie y de sus especies afines, a fin de corroborar dicha posición taxonómica, como así también aportar características para la correcta delimitación de *Cheilanthes* s. str.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Análisis filogenético molecular

Extracción, amplificación y secuenciación de ADN. A partir del material de *Cheilanthes volcanensis* (F. Luna s.n., MCNS-13564), recientemente coleccionado en Salta (Argentina), se obtuvieron secuencias de los marcadores plastidiales *rbcL* y *matK*. El ADN genómico total se extrajo de hojas secas con el protocolo de bromuro de cetil-trimetilamonio (Doyle & Doyle, 1987). La amplificación por PCR de los marcadores *matK* y *rbcL* se realizó utilizando los cebadores propuestos por Kuo et al. (2011) y Gastony & Rollo (1995), respectivamente. Las reacciones de PCR se realizaron en volúmenes finales de 25 µL con 50-100 ng de ADN molde, 0,2 µM de cada cebador, 25 µM de dNTP, 5 mM de MgCl<sub>2</sub> y buffer 1x y 0,3 unidades de polimerasa Taq de Invitrogen Life Technologies (Brasil). Los ciclos de la PCR se realizaron bajo los siguientes parámetros: 1 ciclo de 94°C por 5 min, 39 ciclos de 94°C por 30 s, 48°C por 1 min, y 72°C por 1 min 30 s, y una extensión final ciclo de 72°C por 10 min. Los productos de PCR se procesaron en un gel de agarosa TBE al 1 % teñido con SYBRSAFE (Invitrogen), y se visualizaron en un transiluminador de luz azul. La secuenciación automatizada fue realizada por Macrogen, Inc. (Seúl, Corea). Las secuencias fueron editadas y alineadas utilizando el programa Bioedit (Hall, 1999).

Análisis filogenéticos. Las secuencias obtenidas de *rbcL* y *matK* se analizaron en diferentes matrices disponibles para ambos marcadores, respectivamente: en la matriz combinada de *rbcL*+trnL-F+rps4, de la filogenia de *Cheilanthes*

de Ponce & Scataglini (2020) (73 taxones x 3304 caracteres; Apéndice A, Material suplementario I <http://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1118/1289>), analizada bajo Inferencia Bayesiana; y en la matriz de *matK* de Ponce & Scataglini (2016), basada en el trabajo de la filogenia de *Gaga* de Li et al. (2012) (26 taxones x 1303 caracteres; Apéndice B, Material suplementario II <http://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1118/1290>), analizada bajo el criterio de Parsimonia. El detalle de los taxones analizados y los números de acceso de GenBank se encuentran disponibles en los Apéndices A y B.

El análisis bayesiano se realizó con BEAST 1.8.1 (Drummond et al., 2012), bajo los mismos parámetros utilizados en el análisis de esta matriz en Ponce & Scataglini (2020). Se tomaron muestras de dos corridas independientes de 10 millones de generaciones cada 1000 generaciones. Para identificar cuándo los análisis alcanzaron la estacionariedad, se verificaron valores de ESS > 200 con Tracer v1.6 (Rambaut et al., 2014). Con base en este diagnóstico de convergencia, los primeros 1000 árboles muestreados fueron descartados utilizando TreeAnnotator 1.7.1 (Drummond et al., 2012). Los árboles de las dos corridas independientes se combinaron utilizando LogCombiner 1.8.4 (Drummond et al., 2012). El árbol de máxima credibilidad con las probabilidades posteriores (PP) de cada nodo se visualizó en FigTree 1.3.1 (Rambaut, 2009).

El análisis de parsimonia se realizó utilizando TNT 1.1 (Goloboff et al., 2008). Todos los caracteres se ponderaron por igual y se trataron como desordenados. Las búsquedas incluyeron 1000 repeticiones, cada una de las cuales generó un árbol de Wagner usando una secuencia de adición aleatoria de taxones de la matriz de datos, intercambiando el árbol inicial con TBR (bisección y reconexión de árboles) y reteniendo un máximo de 10 árboles en cada réplica. Posteriormente, todos los árboles óptimos se intercambiaron utilizando TBR, con un máximo de 20000 árboles. Se generó un árbol de consenso estricto a partir de los árboles más parsimoniosos. Los soportes de las ramas se estimaron utilizando Bootstrap (BS) (Felsenstein, 1985) con un total de 10000 repeticiones. Cada réplica se analizó usando 10 árboles de Wagner como punto de partida, seguido de un intercambio de ramas TBR, salvando sólo un árbol por réplica.

### Análisis morfo-anatómico

Se examinaron especímenes de herbario de *Cheilanthes volcanensis* y de *Gaga marginata*, depositados en LIL y MCNS (Thiers, 2023). Complementariamente, se analizó material depositado en SI de *C. rufopunctata* y *C. glauca*, ambas especies pertenecientes al clado donde se ubicó *C. volcanensis* en el análisis molecular realizado (ver Material examinado).

Los ejemplares frescos se fijaron en FAA (1:1:8 v/v/v formaldehído: ácido acético glacial: alcohol etílico 80%) para estudios de microscopía óptica. Los cortes histológicos se realizaron a mano alzada, en sentido transversal, y las secciones se decoloraron con hipoclorito de sodio (NaClO) comercial diluido en agua a una proporción de 1:1; posteriormente, se lavaron cinco veces con agua destilada, y se aplicó la coloración diferencial azul astra (0,5%) y safranina (1%) (Bruno et al., 2007). El diafanizado de las láminas foliares se realizó siguiendo la técnica de Dizzeo de Strittmater (D'Ambrogio de Argüeso, 1986), las que fueron posteriormente coloreadas con azul astra. En algunos casos, se realizó coloración diferencial safranina-azul astra, a fin de visualizar con mayor contraste los tricomas glandulares de la superficie foliar. Las esporas se suspendieron en etanol 96%, y después de la deshidratación, se secaron con dióxido de carbono en un equipo de preparación para muestras para MEB marca Denton Vacuum DCP-1, y se fijaron en "stubs" de aluminio con cinta bifaz de grafito y se las recubrió de oro (20-24 nm de espesor) con un equipo marca Denton Vacuum Desk IV.

Para el análisis comparativo se estudiaron los siguientes caracteres diagnósticos descritos para *Cheilanthes* (Tryon et al., 1990; Li et al., 2012; Ponce, 2016). Raíces: características de la corteza, distribución de los tejidos mecánicos, endodermis y bandas de Caspary; cilindro vascular, estratos de periciclo y tipo de estela. Peciolos y raquis: forma en sección transversal; distribución de los tejidos mecánicos y vasculares en sección basal (SB), sección media (SM) y sección distal (SD). Láminas: arquitectura foliar e indumento; características del margen reflexo o pseudoindusio. Esporas: Cantidad de esporas por esporangio, diámetro ecuatorial y ornamentación.

Las observaciones, ilustraciones y fotografías se realizaron con microscopios de luz marca Leica DM500 con cámara anexada ICC50 HD, Zeiss Axiostar con una cámara Canon Powershot A620 de 7,2 MP y Olympus CX 41 con una cámara digital Zeiss Axiocam ERc 5s", estereoscopios Optika SZM-LED2 con cámara anexada MotiCAM BTU10 y Nikon SMZ 800 con cámara de video, y microscopio electrónico de barrido Supra SS VP (Zeiss) del Centro Integral de Microscopía Electrónica (CEMA, CONICET).

## RESULTADOS

### Análisis filogenético molecular

La secuencia de *rbcL* de *Cheilanthes volcanensis*, obtenida y analizada bajo Inferencia Bayesiana en la matriz combinada de Ponce & Scataglini (2020), mostró que la especie se incluye en el clado exclusivamente sudamericano de *Cheilanthes* s. str. (PP = 0,98), ubicándose como especie hermana de *C. rufopunctata* (PP = 0,99), en un subclado de PP = 0,98 integrado por *C. glauca* y *C. hypoleuca* (Kunze) Mett. (Fig. 1).

De igual modo, la secuencia de *matK*, obtenida y analizada bajo Parsimonia en la matriz de Ponce & Scataglini (2016), resultó en 17 árboles más parsimoniosos de 495 pasos, cuyo consenso estricto mostró a *C. volcanensis* nuevamente en el clado sudamericano de *Cheilanthes* s. str. como especie hermana de *C. rufopunctata* con un soporte de Bootstrap BS=100% (Fig. 2). Las secuencias de estas dos especies comparten además una delección de 3 pares de bases, exclusiva de ambas, en las posiciones 754-757 de la matriz de *matK* (Apéndice B)

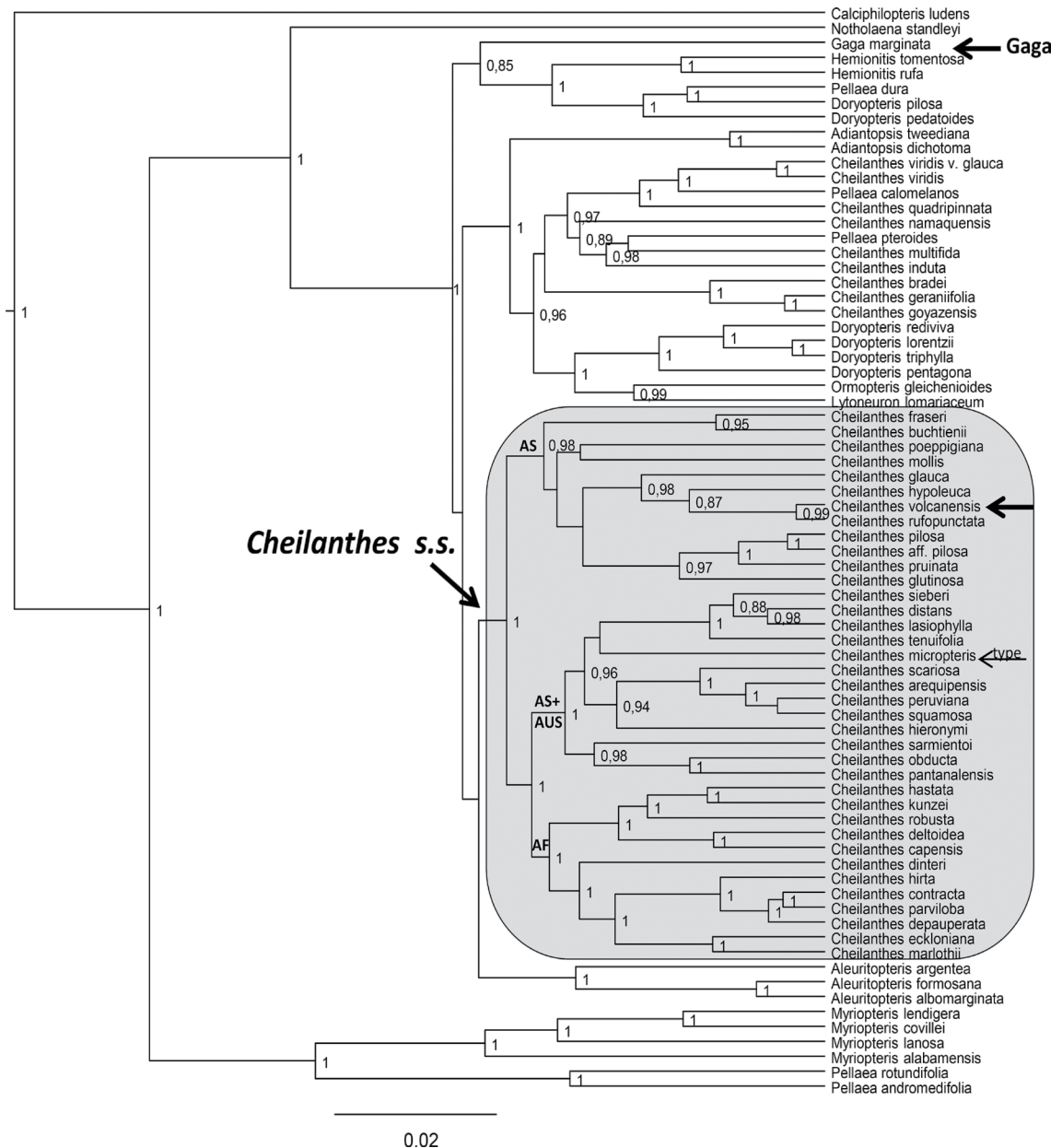
### Análisis morfo-anatómico

Se describe la morfo-anatomía de las estructuras vegetativas y reproductivas de *Cheilanthes volcanensis*, *C. glauca*, *C. rufopunctata* y *Gaga marginata*. Los caracteres analizados se presentan en forma comparada en la Tabla 1 y en las Figuras 3 a 5.

**Raíces.** La epidermis es 1-estratificada de paredes delgadas en las cuatro especies (Fig. 3 A-D);

la corteza es parenquimática y no lignificada, excepto en *C. rufopunctata* que presenta una corteza lignificada (Fig. 3 B). El cilindro vascular diarco está rodeado por una endodermis uniestratificada

y posee un periciclo 1-3-estratificado en capas irregulares, mientras que *C. volcanensis* se distingue por su periciclo 3-estratificado en capas regulares (Fig. 3 C).



**Fig. 1.** Árbol obtenido del análisis Bayesiano de la matriz combinada de Ponce & Scataglini (2020), incluyendo a *Cheilanthes volcanensis*. En los nodos, se muestran los valores de Probabilidades Posteriores (PP) mayores de 0,85. Abreviaturas: **AF**, clado africano; **SA**, clado sudamericano; **SA+AUS**, clado sudamericano + Australasia.

**Tabla 1.** Caracterización morfo-anatómica comparada entre *Cheilanthes volcanensis*, *C. glauca*, *C. rufopunctata* y *Gaga marginata*. Abreviaturas: SB, sección basal; SM, sección media; SD, sección distal.

		<i>Cheilanthes glauca</i>	<i>Cheilanthes rufopunctata</i>	<i>Cheilanthes volcanensis</i>	<i>Gaga marginata</i>
<b>Raíz</b>	<b>Corteza</b>	parenquimática no lignificada	parenquimática lignificada	parenquimática no lignificada	parenquimática no lignificada
	<b>Cilindro vascular</b>	diarco	diarco	diarco	diarco
	<b>Endodermis</b>	1-estratificada	1-estratificada	1-estratificada	1-estratificada
	<b>Periciclo</b>	2-3-estratificado, capas irregulares	1-2-estratificado, capas irregulares	3-estratificado, capas regulares	2-3-estratificado, capas irregulares
<b>Rizomas</b>		horizontales	horizontales	horizontales	ascendentes
<b>Escamas del rizoma</b>	<b>Color</b>	concoloras, rojizas	concoloras, castaño rojizas o castaño oscuras	concoloras, castaño rojizas	bicoloras, centro castaño y margen castaño claro
	<b>Forma</b>	subuladas, largamente atenuadas con glándula apical	subuladas, largamente atenuadas con glándula apical	ovado-trianguulares, cortamente atenuadas con glándula apical	subuladas, largamente atenuadas con glándula apical
	<b>Margen</b>	entero	entero	entero	entero
<b>Pecíolo</b>	<b>Sección</b>	terete en SB, a semiteretes en SM, con surco en SD; con alas en SD	semiteretes en SB y SM, con surco en SD; con alas en SD	semiteretes en SB y SM, con surco en SD; con alas desde SM a SD	semiteretes en SB y SM, con surco en SD; con alas en SD
	<b>Corteza</b>	parenquimática, paredes engrosadas, sin cavidades aéreas	parenquimática, paredes engrosadas, con cavidades aéreas estrechas	parenquimática, paredes delgadas, con cavidades aéreas amplias	parenquimática, paredes engrosadas, sin cavidades aéreas
	<b>Esclerénquima</b>	subepidérmico	subepidérmico, casquete de fibras debajo surco SB dioxilar en SB,	subepidérmico	subepidérmico, casquete de fibras en surco SM y SD
	<b>Xilema</b>	monoxilar	monoxilar en SM y SD	monoxilar	monoxilar
	<b>Forma</b>	V-Y-Y	U-V-V	V-X-X	V-V-V
<b>Raquis</b>	<b>Sección</b>	surcado, con aristas parenquimáticas, sin cavidades aéreas	surcado, con alas parenquimáticas, con cavidades aéreas estrechas	surcado, con alas parenquimáticas, con cavidades aéreas amplias	surcado, con alas parenquimáticas, sin cavidades aéreas
	<b>Esclerénquima</b>	casquete de fibras debajo del surco	---	--	casquete de fibras debajo del surco
	<b>Forma del xilema</b>	Y	V	X	V
<b>Láminas</b>	<b>Contorno y división</b>	pentagonal, 3-4-pinnado-pinnatifidas	pentagonal, 2-3-pinnado-pinnatifidas	pentagonal a ovado-trianguulares, 2-3(-4)-pinnado-pinnatifidas	pentagonal o triangulares, 3-pinnadas
	<b>Consistencia</b>	cartáceas o subcamosas	cartáceas	membranáceas	cartáceas
<b>Indumento de la lámina y ejes</b>	<b>Posición</b>	cara adaxial glabra; cara abaxial con pelos glandulares	cara adaxial glabra; cara abaxial con pelos glandulares	cara adaxial glabra; cara abaxial con escasos pelos glandulares	cara adaxial glabra; cara abaxial con pelos glandulares
	<b>Tipos de pelos</b>	1-2-celulares, simples, paucicelulares, curvos, rojizos	2-3-celulares, rojos, sobre ejes y venas	2-celulares, hialinos, sobre las venas	2-celulares, hialinos, entre venas

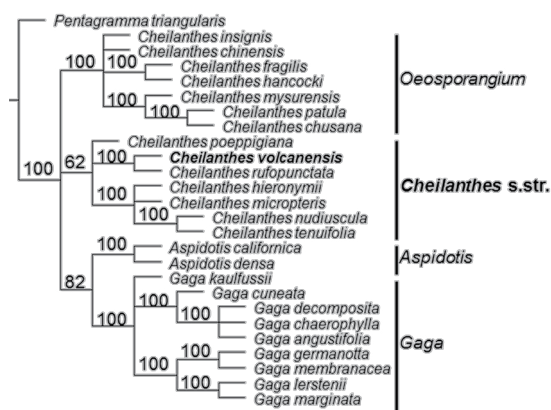
**Tabla 1.** (Continuación). Caracterización morfo-anatómica comparada entre *Cheilanthes volcanensis*, *C. glauca*, *C. rufopunctata* y *Gaga marginata*. Abreviaturas: SB, sección basal; SM, sección media; SD, sección distal.

		<i>Cheilanthes glauca</i>	<i>Cheilanthes rufopunctata</i>	<i>Cheilanthes volcanensis</i>	<i>Gaga marginata</i>
<b>Falso indusio</b>	<b>Forma</b>	continuos, limitados al segmento, recurvados	continuos, limitados al segmento, curvados	continuos, limitados a los segmentos, curvados	continuos, decurrentes en costas y raquis, recurvados,
	<b>Consistencia</b>	subcarnosos, verdosos	membranáceos, hialinos	membranáceos, hialinos	membranáceos, hialinos
	<b>Margen</b>	papilado	eroso-papilado	eroso	fimbriado
<b>Esporas</b>	<b>Nº de esporas por esporangio</b>	64	64	64	32
	<b>Tamaño</b>	40 - 50 µm	40 - 50 µm	45 - 55 µm	60 - 87 µm
	<b>Perisporio</b>	rugulado-crestado	rugulado-reticulado y perforado	crestado-reticulado y perforado	rugulado o rugulado-crestado

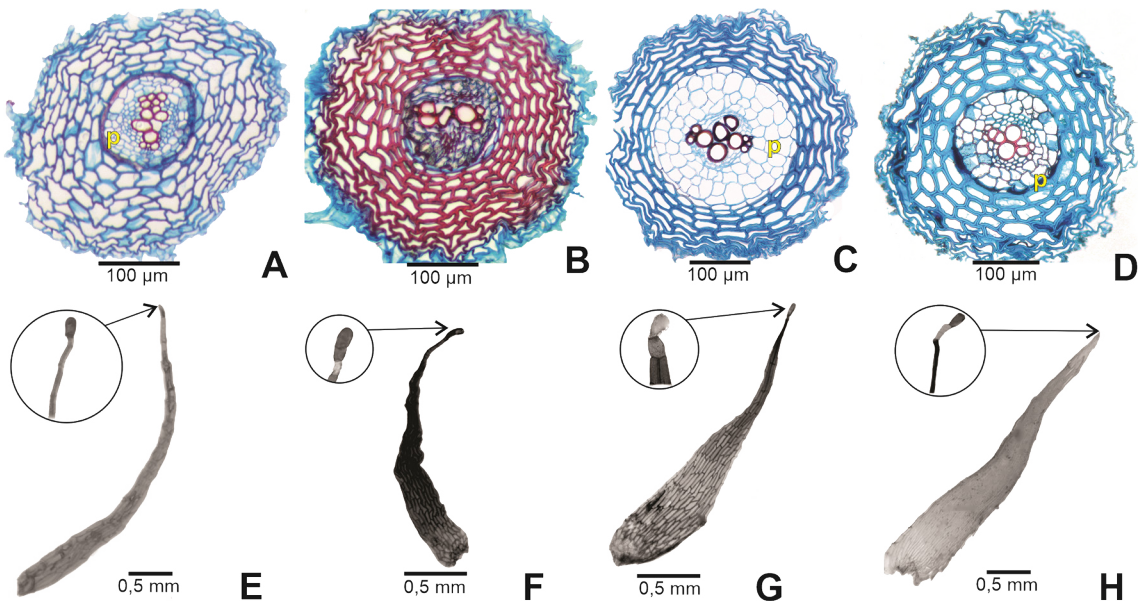
**Rizomas.** Los rizomas son horizontales en las tres especies de *Cheilanthes*, y ascendentes en *G. marginata*; en general de 2-3 mm diámetro. El cilindro vascular es soleno-dictiostélico en las cuatro especies. Las escamas rizomáticas en las especies de *Cheilanthes* son concoloras; en *C. glauca* y *C. rufopunctata* son angostamente triangulares (subuladas), con márgenes enteros y el ápice largamente atenuado con una glándula apical de contorno elíptico a clavado (Fig. 3 E, F), mientras que en *C. volcanensis* son ovado-triangulares, cortamente atenuadas apicalmente, y también con una glándula apical de la misma forma (Fig. 3 E-G). En *G. marginata* las escamas son bicoloras castaño-oscuros con un margen angosto castaño-claro o a veces concoloras, angostamente triangulares, atenuadas, con glándula apical (Fig. 3 H).

**Pecíolo y raquis.** En las cuatro especies, los pecíolos son teretes o semiteretes en SB y SM; a partir de la SM se encuentra un surco dorsal más o menos pronunciado (Fig. 4 A-B, E-F, I-J, M-N). En la SD y en el raquis, se encuentran aristas o alas latero-dorsales, que a veces son verdes (Fig. 4 G-H, K-L, O-P), en *C. glauca* son menos pronunciadas (Fig. 4 C-D). *Cheilanthes volcanensis* es la única especie con pecíolo alado en gran parte de su extensión hasta el raquis (Fig. 4 J-L). Las cuatro especies presentan una epidermis 1-estratificada, corteza parenquimática

con esclerénquima subepidérmico o en casquetes de fibras (cfr. Tabla 1). El parénquima cortical de las alas de los ejes presenta cavidades aéreas muy desarrolladas en *C. volcanensis* (Fig. 4 J-L), y menos pronunciadas en *C. rufopunctata* (Fig. 4 G-H). El xilema es monoxilar, excepto en *C. rufopunctata* que presenta un xilema dixilar en la base (Fig. 4 E); la forma del xilema es en “V”, “U”, “X” e “Y”, predominando la forma en “V”. *Cheilanthes volcanensis* se identifica por el xilema en “X” en gran parte del pecíolo y raquis (Fig. 4 J-L).

**Fig. 2.** Árbol de consenso estricto obtenido del análisis de Parsimonia de la matriz de *matK* de Ponce & Scataglini (2016), incluyendo a *Cheilanthes volcanensis*. Los valores de Bootstrap se indican sobre las ramas.





**Fig. 3.** Raíces en corte transversal. **A**, *Cheilanthes glauca*. **B**, *C. rufopunctata*. **C**, *C. volcanensis*. **D**, *Gaga marginata*. Escamas rizomáticas. **E**, *C. glauca*. **F**, *C. rufopunctata*. **G**, *C. volcanensis*. **H**, *G. marginata*. Abreviaturas: **p**, periciclo. Figura en color en la versión en línea <http://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1118/1288>

**Láminas.** Las láminas son de contorno pentagonal, de consistencia cartácea a subcarnosa, excepto en *C. volcanensis*, que tiene láminas membranáceas. En *C. rufopunctata*, *C. volcanensis*, y *G. marginata*, la superficie adaxial es glabra, y la abaxial presenta pelos glandulares 2-3-celulares (Fig. 5 D, F, I). En cambio, en *C. glauca*, además de pelos glandulares, posee pelos simples, con un pie 1-celular, corto, de paredes delgadas y una célula alargada de paredes gruesas (Fig. 5 B).

Los pseudoindusios en *Cheilanthes*, están restringidos a los segmentos de la lámina; en *G. marginata* son decurrentes a lo largo de los ejes; los bordes varían de papilado a irregularmente papilado en las especies de *Cheilanthes*, y fimbriado en *G. marginata* (Fig. 5 C, E, G, J).

**Esporas.** Son subtriangulares en *C. glauca* y *C. rufopunctata*, y subglobosas en *C. volcanensis* y *G. marginata*. Las tres especies de *Cheilanthes* tienen 64 esporas pequeñas (40-55 µm), mientras que *G. marginata* presenta 32 esporas de mayor tamaño (60-87 µm). Las cuatro especies tienen exosporio liso; en *C. volcanensis* el perisporio es crestado-reticulado con perforaciones (Fig. 5 H), en *C. glauca*

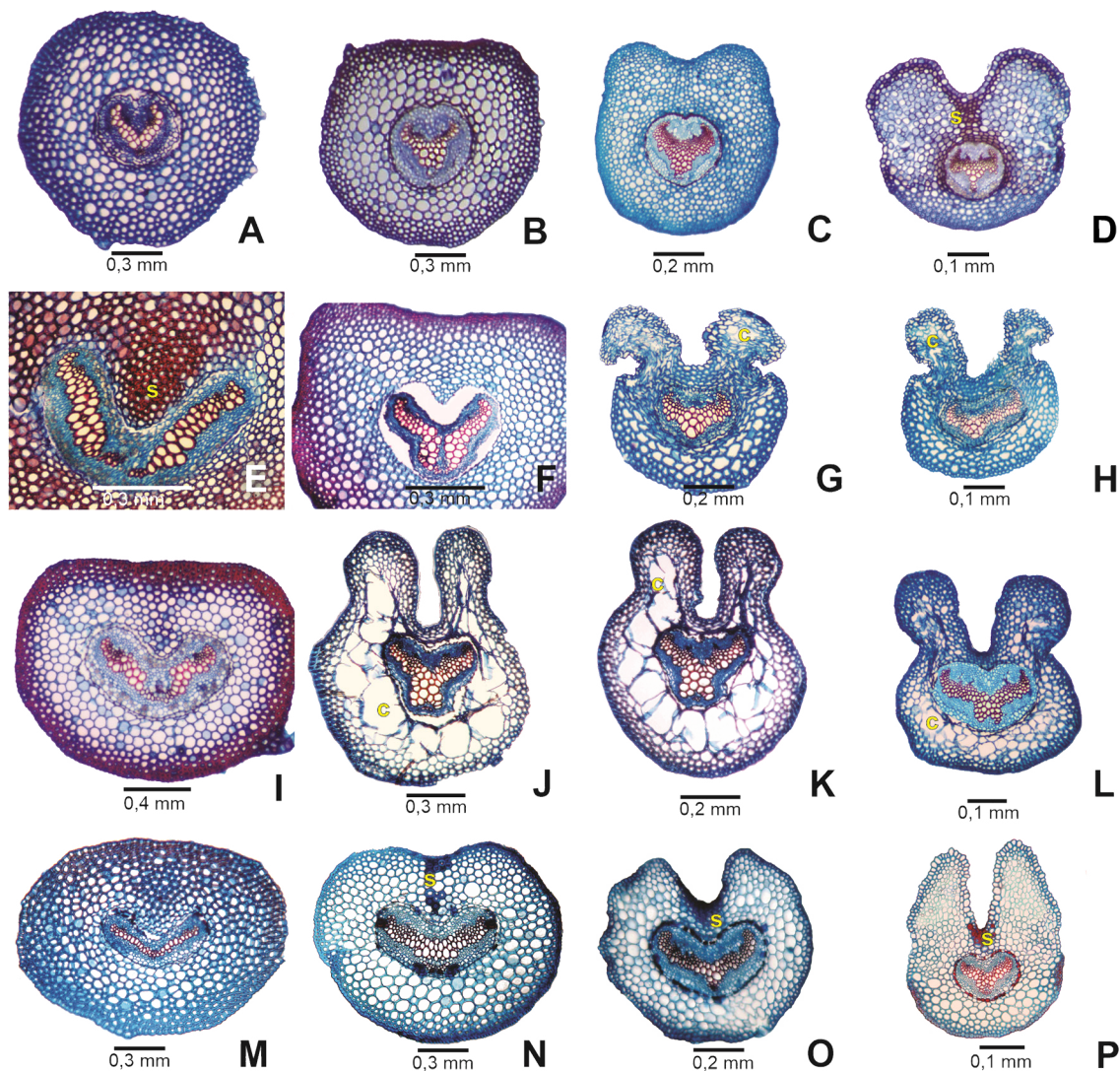
y *C. rufopunctata* el perisporio presenta rúgulas o crestas y perforaciones, esta pared se desprende rápidamente. En *G. marginata* el perisporio es rugulado o rugulado-crestado (Fig. 5 K).

## DISCUSIÓN

En este estudio, la evidencia molecular obtenida del marcador *matK* de la reciente colección de *C. volcanensis*, nos permitió establecer la posición taxonómica de esta especie dentro del género *Cheilanthes* s. str. (Fig. 2). La presencia de los nucleótidos “GAGA” en las posiciones 598-601 de *matK* es propuesta como una sinapomorfia definitoria que caracteriza al género *Gaga* (Li et al., 2012). La secuencia obtenida de *C. volcanensis* presentó los nucleótidos “GAGG” en dichas posiciones de *matK*, demostrando su no pertenencia al género *Gaga*.

Por otro lado, el análisis de la secuencia de *rbcL* de *C. volcanensis*, en la matriz combinada de Ponce & Scataglini (2020), que incluye casi la totalidad de las especies cheilanthoides sudamericanas, nos permitió definir que *C. volcanensis* es la especie

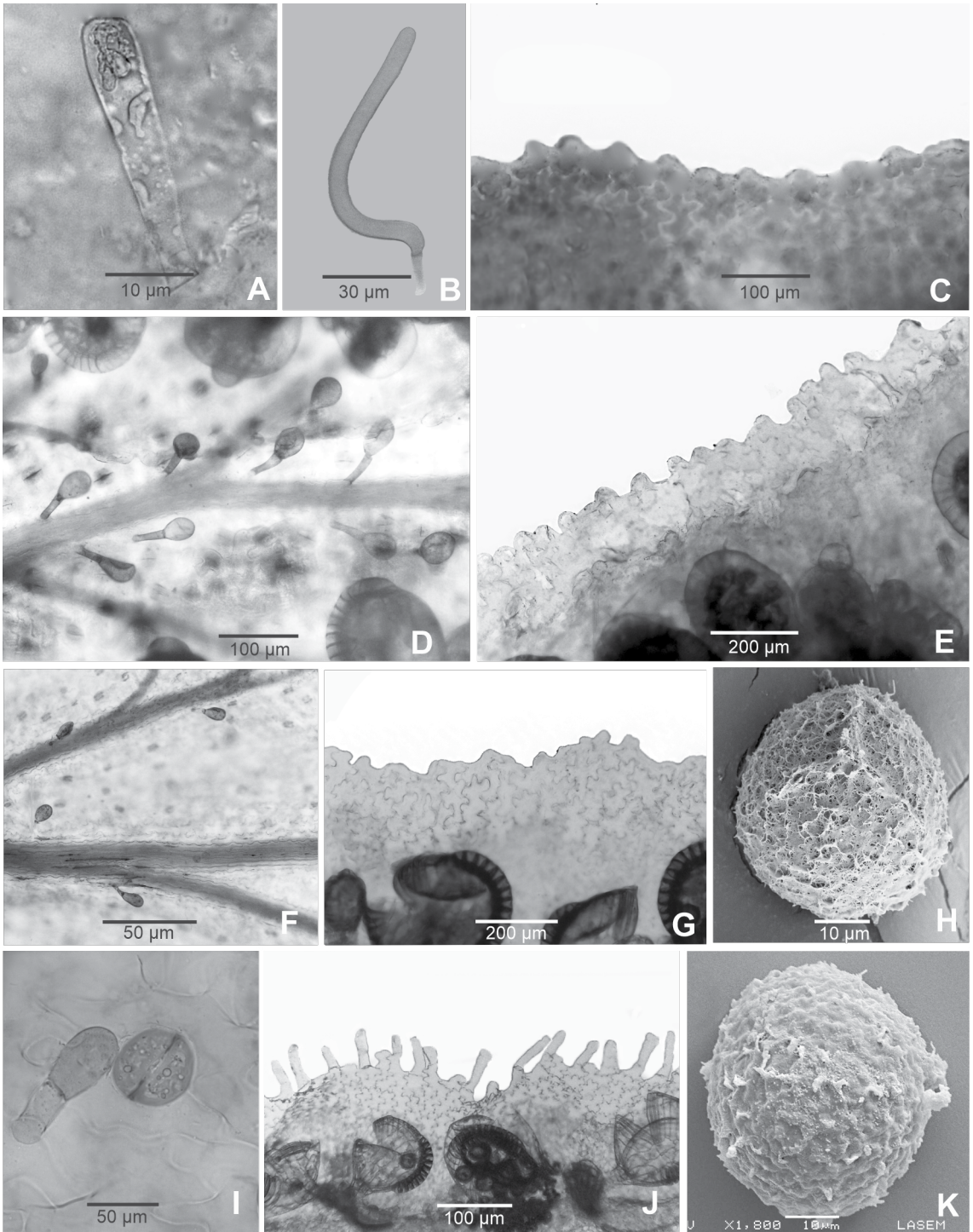




**Fig. 4.** Corte transversal de peciolo en sección basal, media y distal y raquis (de izquierda a derecha). **A-D**, *Cheilanthes glauca*. **E-H**, *Cheilanthes rufopunctata*. **I-L**, *Cheilanthes volcanensis*. **M-P**, *Gaga marginata*. Abreviaturas: **c**, cavidades; **s**, casquete esclerenquimático. Figura en color en la versión en línea <http://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1118/1288>

hermana de *C. rufopunctata* y ambas especies forman, junto a *C. glauca* y *C. hypoleuca*, un sub-clado de máximo soporte perteneciente al clado de *Cheilanthes* s. str. exclusivo de América del Sur (Fig. 1). *Cheilanthes rufopunctata*, crece en los Andes de Bolivia y Perú, entre los 2000-4000 m s.m.; *C. glauca* y *C. hypoleuca*, son endémicas de la región andino-patagónica de la Argentina y Chile (*C. hypoleuca* desde Coquimbo

a Araucanía, y *C. glauca* de Coquimbo a Aysén). Este grupo de especies comparten características morfológicas como los rizomas horizontales; las escamas rizomáticas concoloras de margen entero y terminadas en una glándula; y los peciolo y el raquis son surcados en la porción media y distal. También producen 64 esporas pequeñas por esporangio, que estaría indicando una condición reproductiva sexual (Tabla 1).



**Fig. 5.** Indumento y margen del pseudoindusio y esporas. **A-C**, *Cheilanthus glauca*: **A**, pelo glandular clavado; **B**, pelo simple; **C**, margen papilado. **D-E**, *Cheilanthus rufopunctata*: **D**, pelos glandulares; **E**, margen. **F-H**, *Cheilanthus volcanensis*: **F**, pelos glandulares; **G**, margen; **H**, espóra. **I-K**, *Gaga marginata*: **I**, pelos glandulares; **J**, margen; **K**, espóra.

Desde el punto de vista anatómico, se encontraron algunas diferencias entre las especies de este grupo: *C. volcanensis* se caracteriza por presentar raíces con un periciclo muy desarrollado de 3 capas de células regulares, pecíolo y raquis con alas laterales en casi toda su extensión y cavidades aéreas (grandes espacios entre el parénquima) presentes en la corteza; *C. rufopunctata* se distingue por sus pelos glandulares rojos sobre las costas y venas, por sus raíces con corteza lignificada, y también por presentar cavidades en las alas en la SD del pecíolo y raquis, pero en menor proporción y más pequeñas que en *C. volcanensis* (Tabla 1, Fig. 4 G-H). De acuerdo con los estudios anatómicos en *Cheilanthes* (Hernández, 2019), los tejidos con espacios intercelulares grandes y desiguales se encuentran presentes en algunas especies con similitudes morfológicas y ambientales como *C. hieronymi* y *C. poeppigiana* Mett. ex Kuhn, pertenecientes al clado sudamericano, pero distantes de *C. volcanensis* y sus especies afines. Sus láminas, también pentagonales y con ejes con proyecciones laminares, poseen este tipo de tejido en el parénquima de esas alas, sin embargo, su presencia es mucho menos significativa que en *C. volcanensis*.

Por otro lado, la otra especie del grupo de *C. volcanensis*, *C. glauca*, presenta una morfología externa característica con láminas pentagonales, coriáceas, segmentos linear-elípticos con márgenes recurvados y continuos, con un indumento abaxial de pelos simples, crespados, ferrugíneos, en alta densidad. Estos rasgos diferencian a *C. glauca* del resto de las especies; no obstante, en el aspecto anatómico, no muestra diferencias significativas presentando la estructura y organización semejante al resto de las especies del género.

Por último, el análisis morfo-anatómico mostró que *G. marginata* se distingue del clado de las especies de *C. volcanensis*, principalmente por el tipo de rizoma ascendente; las escamas bicoloras; los márgenes foliares curvados en los segmentos, con borde fimbriado y decurrentes a lo largo de los ejes; y por presentar 32 esporas por esporangio, de mayor tamaño, que estaría indicando una reproducción asexual (Tabla 1). De las 19 especies de *Gaga*, casi la mitad poseen 64 esporas pequeñas (haploides) por esporangio, y el resto 32 esporas grandes (diploides o triploides) (cfr. Li et al., 2012).

## CONCLUSIONES

*Cheilanthes volcanensis* es una especie poco coleccionada y su posición taxonómica ha sido controversial debido a que presenta características morfológicas compartidas con las especies del género *Gaga*. El análisis de filogenia molecular de un espécimen recientemente coleccionado de *C. volcanensis*, mostró que la especie no se relaciona con *Gaga*, sino que se ubica en el clado sudamericano de *Cheilanthes* s. str., como especie hermana de *C. rufopunctata*, junto a *C. hypoleuca* y *C. glauca*. Por otro lado, las observaciones morfo-anatómicas, mostraron que *C. volcanensis* comparte con las especies de su clado los siguientes caracteres que, a su vez, se distinguen de los del género *Gaga*: rizomas horizontales (vs. ascendentes en *Gaga*), escamas rizomáticas concoloras (vs. bicoloras en *Gaga*) y la presencia de 64 esporas pequeñas (vs. 32 esporas grandes en *G. marginata*). Además, *C. volcanensis* se distingue de las especies de su clado, por presentar las siguientes características anatómicas particulares: raíces con periciclo muy desarrollado de 3 capas regulares (vs. 1-3 capas irregulares), cavidades aéreas amplias en la corteza del pecíolo y raquis (vs. parénquima sin cavidades aéreas o cavidades estrechas), surco dorsal con alas a cada lado, que se extiende en la mayor parte del eje pecíolo-raquis (vs. surco dorsal con alas o aristas a partir de la SD y raquis) y, por último, la presencia de láminas membranáceas, pentagonales u ovado-trianguulares (vs. cartáceas o subcarnosas, pentagonales)

## Tratamiento taxonómico

***Cheilanthes volcanensis*** de la Sota, Darwiniana 17: 78, fig. 5, G-I, Lám. I, 1. 1972. *Hemionitis volcanensis* (de la Sota) Christenh., Global Fl. 4: 23. 2018. TIPO. Argentina. Jujuy. Depto. Tumbaya. Estación Volcán, I-1920, *L. Castillón* 20 (holotipo, LIL-17156!; isotipo, US!).

**Distribución.** Se distribuye en la Argentina, en las provincias de Jujuy, Salta y Tucumán, y también en Cochabamba, Bolivia. Crece exclusivamente en los pastizales de neblina por encima de los 2000 m s.m.



**Observaciones.** En la etiqueta del material tipo, solo figura (ex-)Estación Volcán, es una localidad pequeña al costado de la Ruta Nacional 9 en la provincia de Jujuy, sus alrededores más cercanos no representan el hábitat de *C. volcanensis*, probablemente el ejemplar proviene de los sitios neblinosos a mayor altitud que se encuentran en las montañas que bordean la quebrada.

### Material examinado

ARGENTINA. **Salta.** Depto. Santa Victoria: Nazareno, cerro de San Marcos, 3200 m s.m., 19-IV-2020, *F. Luna s.n.* (MCNS-13564). **Tucumán.** Depto. Chicligasta: Cochuna Basin, 26-III-1978, *S. Halloy 134* (LIL). Depto. Lules: Filo de Mala Mala, 06-IV-1904, *M. Lillo 3460* (LIL). Depto. Tañi del Valle: La Ciénaga, Cerros de las Aguadas, 19-XII-1888, *M. Lillo 1310* (LIL).

### Material examinado de las especies afines a *C. volcanensis*

*Cheilanthes glauca*. ARGENTINA. **Neuquén.** Depto. Lácar: Ruta Nacional 234, 5 km S de San Martín de los Andes, borde del Cerro Colorado, 960 m s.m., 25-I-2006, *M. J. Belgrano et al. 522* (SI). CHILE. **Región del Bio Bio** (VIII). Prov. Bio Bio. Ruta Q-45, El Abanico, 28-XI-2008, *O. Morrone et al. 6013* (SI).

*Cheilanthes rufopunctata*. BOLIVIA. **La Paz.** Inquisivi, entre Choquetanga y Carabuco, 3000-3200 m s.m., 27-I-1990, *M. Lewis 37011* (SI).

*Gaga marginata*. ARGENTINA. **Jujuy.** Depto. Valle Grande: Santa Ana, Camino del Inca, 29-XI-2008, *M. Hernández & M. Mata 850, 851, 852, 853* (LIL); Camino del Inca desde Santa Ana hasta 2 km de Valle Colorado, 26-II-2009, *M. Hernández & N. Muruaga 927, 952* (LIL); Santa Ana, camino del Inca por las escaleras, 11-IV-2011, *M. Hernández, L. Terán & F. Ríos 1650, 1651, 1653, 1654* (LIL). **Tucumán.** Depto. Tañi del Valle: El Rincón, 17-XII-2013, *M. Hernández et al. 3215* (LIL); El Rincón camino a El Mollar, 03-V-2014, *M. Hernández et al. 3367, 3370, 3404, 3405* (LIL); La Ciénaga, 20-IV-2013, *R. Delgado 423* (LIL).

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los curadores de los herbarios LIL, MCNS y SI, por brindar acceso a los especímenes de estudio. También agradecemos a Fani Luna y Fabiola Serapio por las valiosas colecciones de plantas de Nazareno, Salta, y a Fabiana Ríos (F. Lillo) que colaboró con la parte histológica. A la Universidad Nacional de Salta, a la Fundación Miguel Lillo y al Instituto de Botánica Darwinion-CONICET (PIP 00741), por disponer los ámbitos de investigación y la financiación de este trabajo. Por último, agradecemos a los dos revisores anónimos y al editor del trabajo por sus valiosos comentarios y aportes.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bruno, G.; L. Stiefkens, M. Hadid, I. Liscovsky, M. T. Cosa & N. Dottori. 2007. Efecto de la contaminación ambiental en la anatomía de la hoja de *Ligustrum lucidum* (Oleaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 42 (3-4): 231-236
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Buenos Aires: Hemisferio Sur. S.A.
- Doyle, J. & J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19(1): 11-15.
- Drummond, A. J.; M. A. Suchard, D. Xie & A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution* 29:1969-1973. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/mss075>
- Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist* 125: 1-15. DOI: <https://doi.org/10.1086/284325>
- Fraser-Jenkins, C. R. 2016. A revised checklist of Indian pteridophytes-I. *Indian Fern Journal* 33: 193-205.
- Fraser-Jenkins, C. R.; K. N. Gandhi, B. S. Kholia & A. Benniamin. 2016. (dated "2017"). An annotated checklist of Indian Pteridophytes. Part 1. *Lycopodiaceae to Thelypteridaceae* pp. 562 Dehradun: Bishen Singh Mahendra Pal Singh.
- Gastony, G. J. & D. R. Rollo. 1995. Phylogeny and generic circumscriptions of cheilanthoid ferns (Pteridaceae, Cheilanthes) inferred from *rbcL* nucleotide sequences. *American Fern Journal* 85: 341-360.
- Goloboff, P.; J. Farris & K. C. Nixon. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774-786. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2008.00217.x>
- Grusz, A. L. & M. D. Windham. 2013. Toward a monophyletic *Cheilanthes*: The resurrection and recircumscription of *Myriopteris* (Pteridaceae). *Phytokeys* 32: 49-64.

- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Hernández, M. & P. Albornoz. 2001. Morfología y anatomía foliar en especies de *Cheilanthes* (Pteridaceae) del noroeste argentino. *Lilloa* 40(2): 187-207.
- Hernández, M. A. 2019. Estudios anatómicos y reproductivos en helechos cheilanthoides (Pteridaceae) de Argentina, su implicancia en la filogenia de la familia Pteridaceae. *Tesis doctoral* pp. 275. Universidad Nacional de Salta.
- Kuo, L.Y.; F. W., Li, W. L. Chiou & C. N. Wang, C.N. 2011. First insights into fern *matK* phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 556-566. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.03.010>
- Li, F. W.; K. M. Pryer & M. D. Windham. 2012. *Gaga*, a new fern genus segregated from *Cheilanthes* (Pteridaceae). *Systematic Botany* 7(4): 845-860.
- Link-Pérez, M. A.; L. E. Watson & R. J. Hickey 2011. Redefinition of *Adiantopsis* Fée (Pteridaceae): Systematics, diversification, and biogeography. *Taxon* 60(5):1255-1268.
- Morbelli, M. & M. M. Ponce. 1997. Palynological study of *Cheilanthes* and *Astrolepis* (Pteridaceae) species from Northwestern Argentina. *American Fern Journal* 87(2): 51-65.
- Ponce, M. M. 2016. Pteridaceae: *Cheilanthes*, en F. O. Zuloaga & M. J. Belgrano (Eds.). *Flora Vascular de la República Argentina: Licofitas, Helechos y Gymnospermae: Vol. 2*, pp. 288-299. Buenos Aires. Estudio Sigma S.R.L.
- Ponce, M. M. & M. A. Scataglini. 2012. Nuevas combinaciones en *Adiantopsis* (Cheilantheae, Pteridaceae) de América del Sur. *Novon* 22: 62-66.
- Ponce, M. M. & M. A. Scataglini. 2016. Do two South American species of *Cheilanthes* (Pteridaceae) traditionally linked to the *Cheilanthes marginata* group, belong to *Gaga*? *Phytotaxa* 257(2): 149-157.
- Ponce, M. M. & M. A. Scataglini. 2018. Further progress towards the delimitation of *Cheilanthes* (Cheilantheae, Pteridaceae), with emphasis on South American species. *Organism Diversity and Evolution* 18(2): 175-186. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13127-018-0366-6>
- Ponce, M. M. & M. A. Scataglini. 2020. Phylogenetic position of South American *Cheilanthes* (Cheilantheae, Pteridaceae): Advances in the generic circumscription and segregation of the new genus *Mineirella*. *Journal of Systematic & Evolution* 60(2): 266-280. DOI: <https://doi.org/10.1111/jse.12723>
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal of Systematics and Evolution* 54(6): 563-603.
- Rambaut, A. 2009. FigTree. Tree Figure Drawing Tool. Version 1.3.1. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rambaut, A.; M. A. Suchard, D. Xie & A. J. Drummond. 2014. Tracer v1.6. Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Thiers, B. [permanentemente actualizado, consulta 2023] Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Disponible en <http://sweetgum.nybg.org/ih>
- Tryon, A. F. & B. Lugardon. 1991. *Spores of the Pteridophyta*. New York: Springer-Verlag. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8991-0>
- Tryon, R. M.; A. F. Tryon & K. U. Kramer. 1990. Pteridaceae, en K. Kubitzki(ed.). The families and genera of vascular plants. *Pteridophytes and gymnosperms* Vol 1, pp. 230-256. Berlin: Springer-Verlag.
- Yesilyurt, J. C.; T. Barbará, H. Schneider, S. Russell, A. Culham & M. Gibby. 2015. Identifying the generic limits of the Cheilanthoid genus *Doryopteris*. *Phytotaxa* 221: 101-122.
- Zhang, G., & G. Yatskievych. 2013. *Cheilanthes*, en Z. Wu, P. H. Raven, & D. Hong (Eds.) *Flora of China. Beijing Vol. 2*, pp. 218-223. Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- Zhang, G.; G. Yatskievych & E. A. Hooper. 2013. *Aleuritopteris*, en Z. Wu, P. H. Raven, & D. Hong (eds.) *Flora of China. Beijing Vol. 2*, pp 224-229 Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.

**Apéndice A.** Detalle de las especies incluidas en la matriz combinada de Ponce & Scataglini, 2020. Los números de Genbank se muestran en el siguiente orden: *rbcL*, *trnL-F* y *rps4-trnS*. Las secuencias no disponibles se indican con --. La secuencia obtenida para *Cheilanthes volcanensis* se muestra en negrita e indicada con asterisco.

*Adiantopsis dichotoma* (Sw.) T. Moore, MG593078, --, --. *A. tweediana* Hook., MG593081, --, MW245820. *Aleuritopteris albomarginata* (C.B. Clarke) Ching, AY266411, DQ432665, --. *A. argentea* (S.G. Gmel.) Fée, AY266410, DQ432667, --. *A. formosana* (Hayata) Tagawa, DQ432643, DQ432671, --. *Calciophlopteris ludens* (Wall. ex Hook.) Yesilyurt & H. Schneid. DQ432657, DQ432686, KU147318. *Cheilanthes arequipensis* (Maxon) R.M. Tryon & A.F. Tryon, MW245815, MW245809, --. *C. bradei* J. Prado & A.R. Sm., JN122014, JN122019, --. *C. buchtienii* (Rosenst.) R. M. Tryon, MG593084, MG593111, DQ914145. *C. contracta* (Kunze) Mett. ex Kuhn, GU935519, GU935593, GU935533. *C. capensis* (Thunb.) Sw., GU935511, --, GU935536. *C. deltoidea* Kunze, GU935512, GU935605, GU935537. *C. depauperata* Baker, GU935516, GU935590, GU935532. *C. dinteri* Brause, GU935506, GU935582, GU935527. *C. distans* (R. Br.) Mett., EU268783, --, DQ914147.

*C. eckloniana* Mett., GU935513, GU935585, GU935540. *C. fraseri* Mett. ex Kuhn, MG593085, --, --. *C. geraniifolia* (Weath.) R.M. Tryon & A.F. Tryon, MG593086, MG593112, --. *C. glauca* (Cav.) Mett. MG593087, MG593113, --. *C. glutinosa* M. Kessler & A.R. Smith, MG593088, MG593114, --. *C. goyazensis* (Taub.) Domin, EF473687, JN122018, --. *C. hastata* Kunze, GU935510, GU935612, GU935538. *C. hieronymi* Herter, MG593090, MG593116, MW245821. *C. hirta* Sw., GU935515, GU935589, GU935531. *C. hypoleuca* (Kunze) Mett., MG593091, MG593117, --. *C. induta* Kunze, GU935501, GU935597, GU935542. *C. kunzei* Mett., GU935508, GU935614, GU935539. *C. lasiophylla* Pic. Serm., HM003032, --, --. *C. marlothii* (Hieron.) Domin, GU935514, GU935586, GU935541. *C. micropteris* Sw., MG593092, MG593118, --. *C. mollis* (Kunze) C. Presl, MW245817, MW245811, MW245822. *C. multifida* (Sw.) Sw., GU935500, GU935596, GU935544. *C. namaquensis* (Baker) Schelpe & N.C. Anthony, GU935492, GU935583, GU935529. *C. obducta* Mett. ex Kuhn, MG593093, MG593119, --. *C. pantanalensis* E.L.M. Assis, Ponce & Labiak, MW245818, MG593120, MW245824. *C. parviloba* Sw., GU935517, GU935591, GU935534. *C. peruviana* (Desv.) T. Moore, MW245819, MW245812, --. *C. pilosa* Goldm., MG593094, MG593121, MW245823. *C. aff. pilosa* MW245816, MW245810, --. *C. poeppigiana* Mett. ex Kuhn, MG593095, MG593122, --. *C. pruinata* Kaulf., MG593096, MG593123, --. *C. quadripinnata* (Forssk.) Kuhn, GU935496, --, GU935550. *C. robusta* (Kuntze) R.M. Tryon, GU935507, GU935609, GU935535. *C. rufopunctata* Rosenst., MG593097, MG593124, --. *C. sarmientoi* Ponce, MG593098, MG593125, MW245825. *C. scariosa* (Sw.) C. Presl, MG593099, MG593126, --. *C. sieberi* Kunze, GU136792, EU831190, EU831154. *C. squamosa* Gillies ex Hook. & Grev., MG593100, MG593127, MW245826. *C. tenuifolia* (Burm. f.) Sw., KP126965, --, KP126988. *C. viridis* Sw., GU935494, GU935603, GU935547. *C. viridis* var. *glauca* Schelpe & N.C. Anthony, GU935495, GU935602, GU935548. ***C. volcanensis* de la Sota, OQ579016\***, --, --. *Doryopteris lorentzii* (Hieron.) Diels, MG593101, MW245813, MW245827. *D. pedatoides* (Desv.) Kuhn, JN122016, JN122022, --. *D. pentagona* Pichi Serm., MG593102, MG593128, MW245828. *D. pilosa* (Poir.) Kuhn, JN122017, JN122023, --. *D. rediviva* Fée, KP407200, KP407220, DQ914141. *D. triphylla* (Lam.) Christ, MG593103, MG593129, DQ914139. *Gaga marginata* Humb. & Bonpl. ex Kunth, MG593104, MG593130, MW245829. *Hemionitis rufa* (L.) Sw., AY357707, --, --. *H. tomentosa* (Lam.) Raddi, MG593105, MW245814, --. *Lytoneuron lomariaceum* (Klotzsch) Yesilyurt, KP407209, JN122020, --. *Myriopteris alabamensis* (Buckley) Grusz & Windham, EF452143, DQ914220, DQ914144. *M. covillei* (Maxon) Á. Löve & D. Löve, EU268782, DQ914221, DQ914146. *M. lanosa* (Michx.) Grusz & Windham, U27205, DQ914227, DQ914153. *M. lendigera* (Cav.) J. Sm., EU268784, DQ914228, DQ914154. *Notholaena standleyi* Maxon, EU268804, --, DQ914169. *Ormopteris gleichenioides* (Gardner) J. Sm., EF473698, KM435287, DQ914138. *Pellaea andromedifolia* (Kaulf.) Fée, U19501, DQ914174, DQ914072. *P. calomelanos* (Sw.) Link GU935497, GU935600, GU935549. *P. dura* (Willd.) Baker, GU935490, GU935579, GU935523. *P. pteroides* (L.) Mett., GU935502, GU935599, GU935545. *P. rotundifolia* (G. Forst.) Hook., U28788, DQ914181, DQ914084.

**Apéndice B.** Detalle de las especies incluidas en el análisis de parsimonia de la matriz de *matK* utilizada en Ponce & Scatagliini (2016), basada en Li et al. (2012). La secuencia obtenida en este trabajo para *Cheilanthes volcanensis* se muestra en negrita e indicada con asterisco.

*Aspidotis densa* (Brack.) Lellinger JX313625; *A. californica* (Hook.) Nutt. ex Copel. JX313624. *Cheilanthes hieronymi* Herter KT932744; *C. micropteris* Sw. JX313627; *C. poeppigiana* Kuhn KT932743; *C. rufopunctata* Rosenst. JX313628; ***C. volcanensis* OQ579017\***. *Gaga angustifolia* (Kunth) F.W. Li & Windham JN647724; *G. chaerophylla* (M. Martens & Galeotti) F.W. Li & Windham JN647733; *G. cuneata* (Kaulf. ex Link) F.W. Li & Windham JX313632; *G. decomposita* (M. Martens & Galeotti) F.W. Li & Windham JN647741; *G. germanotta* JX313646; *G. kaulfussii* (Kunze) F.W. Li & Windham JN647753; *G. lerstenii* (Mickel & Beitel) F.W. Li & Windham JX313636; *G. marginata* (Kunth) F.W. Li & Windham JX313637; *G. membranacea* (Davenp.) F.W. Li & Windham JN647764. *Hemionitis arifolia* (Burm. f.) T. Moore JX313629. *Pentagramma triangularis* (Kaulf.) Yatsk., Windham & E. Wollenw. JX313631.