

## APORTACIONES AL CONOCIMIENTO DEL AGREGADO *CYSTOPTERIS FRAGILIS* EN ESPAÑA

Francisco J. PÉREZ CARRO<sup>1</sup> & M<sup>a</sup> Pilar FERNÁNDEZ ARECES<sup>2</sup>

<sup>1</sup> I.E.S. Bernardino de Escalante, Av. Duque de Ahumada, 5. 39770-Laredo (Cantabria). sfjpecarro@gmail.com

<sup>2</sup> I.E.S. José del Campo, Barrio El Rocillo s/n. 39840-Ampuero (Cantabria). mpareces@gmail.com

**RESUMEN:** Se realiza un estudio del agregado *Cystopteris fragilis* y de *C. alpina*, buscando conocer las relaciones que se pueden establecer, en razón de macro y microcaracteres, entre los distintos tipos de morfologías generales y los diferentes niveles de ploidía encontrados (4x, 6x y 8x). La combinación de tamaño del exosporio y de las células guarda, permite distinguir los cinco taxones analizados, aunque no siempre. Para ello, hemos analizado 43 individuos repartidos por España, con un predominio del área cantábrica. **Palabras clave:** *Pteridophyta*; *Cystopteris*; *Cystopteris fragilis*; *Cystopteridaceae*; citología; nivel de ploidía; micromorfología; España.

**ABSTRACT:** Contributions to the knowledge of the aggregate *Cystopteris fragilis* in Spain. A study of the aggregate *Cystopteris fragilis* and *C. alpina* is carried out, seeking to know the relationships that can be established, due to macro and microcharacters, between the different types of general morphologies and the different levels of ploidy found (4x, 6x and 8x). The combination of the size of the exosporium and the stomatal guard cells, allows us to distinguish the five taxa analyzed, although not always. To do this, we have analyzed 43 individuals spread across Spain, with a predominance of the Cantabrian area. **Keywords:** *Pteridophyta*; *Cystopteris*; *Cystopteris fragilis*; *Cystopteridaceae*; cytology; ploidy level; micromorphology; Spain.

### INTRODUCCIÓN

El género *Cystopteris* Bernh. es incluido en la actualidad en la familia *Cystopteridaceae* (Payer) Shmakov (PPG I, 2016). ROTHFELS & al. (2012) cuestionaron las asignaciones anteriores de *Cystopteris* a *Dryopteridaceae*, *Woodsiaceae* o *Athyriaceae* basándose en análisis filogenéticos. Este género incluye de 10 a 30 especies, según que autores sean consultados. Tradicionalmente, en Europa han sido reconocidos 4 taxones, *C. fragilis* (L.) Bernh., *C. alpina* (Lam.) Desv., *C. diaphana* (Bory) Blasdell, y *C. dickieana* R. Sim.

En la península ibérica los antecedentes en el estudio del complejo poliploide de *Cystopteris* se centran en las aportaciones de ROCHA (1982); PRADA, & SALVO (1985); PRADA (1986), QUINTANILLA & al. (1999), entre las más destacadas. Otras aportaciones determinan el nivel de ploidía de diversos especímenes (LOVE & KJELLQVIST, 1972; QUEIRÓS, 1991 y 1997; QUEIRÓS & al., 1988).

PRADA & SALVO (l.c.) proponen para *C. fragilis* subsp. *fragilis* var. *huteri* Hausm. ex Milde, el rango subespecífico ( $\equiv$  *C. fragilis* subsp. *huteri* (Hausm. ex Milde) Grin., 1952); sobre esta identidad SHMAKOV & al. (2018: 293) realiza una nueva combinación, *Cystopteris huteri* (Hausm. ex Milde) Shmakov, basándose en razones micro-macromorfológicas, así como en su estrecha correspondencia con sustratos dolomíticos.

Por otro lado, para España, de forma adicional, se ha descrito un quinto taxón *C. fragilis* subsp. *pseudoregia* Rivas Martínez, T.E. Díaz, Fern.Prieto, Loidi & Penas (RIVAS MARTÍNEZ & al, 1984), taxón que más tarde es reconocido como especie *C. pseudoregia* (Rivas Martínez, T.E. Díaz, Fern. Prieto, Loidi & Penas) Rivas Mart. (RIVAS MARTÍNEZ in RIVAS MARTÍNEZ & al, 2002).

Desde el punto de vista genético, el grupo se constituye como un complejo poliploide, sin representantes diploides en Europa y con elevados niveles de ploidía LOVIS (1977). Así, para Europa, se ha señalado que *C. fragilis* s.str. presenta tres niveles de ploidía (4x, 6x y 8x), de *C. diaphana* se conoce el nivel hexaploide, de *C. alpina* se ha encontrado el citotipo 6x mientras que *C. dickieana* presenta niveles de ploidía 4x y 6x (MANTON, 1950; LÖVE & KJELLQVIST, 1972; VIDA, 1974; VIDA & MOHAY, 1980; DOSTÁL & REICHSTEIN, 1984; QUEIRÓS, 1991; IVANOVA & PIĘKOŚ-MIRKOWA, 2003; KAWAKAMI & al., 2010; PTÁČEK, 2018; HANUŠOVÁ & al., 2019, entre otros).

Interesados por el conocimiento del agregado *Cystopteris*, nos propusimos para el presente trabajo, partir del conocimiento macromorfológico adquirido durante estudios previos PÉREZ CARRO (1990), y buscar la correspondencia entre los rasgos detectados, el nivel de ploidía y los rasgos micromorfológicos (longitud del exosporio y de las células guarda). Han sido excluidos del presente estudio *C. diaphana* y *C. dickieana* (salvo un único individuo). Somos conscientes de las dificultades de diagnosticar taxones en el complejo que nos ocupa mediante el uso solo de caracteres morfológicos, como ya señalan entre otros BLASDELL (1963), VIDA (1974) o ROTHFELS & al. (2013).

Nos hemos guiado de las siguientes correspondencias entre características determinantes - taxón, a la hora de prefiar el reconocimiento de éstos:

*Cystopteris alpina*: Frondes tri(tetra)pinnatisectas. Pinnas medias con pinnulas distales al menos pinnatipartidas. Estas últimas en general de ovadas a lanceoladas. Segmentos de las pinnulas con dientes emarginados en cuyo seno terminan las nerviaciones.

*Cystopteris fragilis* subsp. *fragilis*: Frondes bi-tripinnatisectas con pecíolo castaño oscuro en grado diverso. Segmentos de las pinnulas con dientes agudos, rara vez truncados, en cuyo seno terminan las nerviaciones.

*Cystopteris fragilis* subsp. *huteri* (Hausm. ex Milde) Prado & Salvo: Frondes bi-tripinnatisectas con pecíolo castaño oscuro en grado diverso. Lámina cubierta de pelos unicelulares glandulares. Segmentos de las pinnulas con dientes agudos, rara vez truncados, en cuyo seno terminan las nerviaciones.

*Cystopteris pseudoregia*: Frondes tripinnatisectas que muestran en las pinnas medias, pinnulas distales como mucho pinnatifidas. Estas últimas en general linear lanceoladas, sobre todo en el ápice de la fronde. Segmentos de las pinnulas con algunos dientes submarginados en cuyo seno terminan las nerviaciones.

Algunas de las características señaladas se pueden observar en la figura 1.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El material utilizado para la realización del estudio, tanto morfológico como citológico, se recoge en el apéndice 1 y se encuentra depositado en el herbario personal de los autores.

Para realizar las medidas y el análisis citológico se usó un microscopio Leica DM 750 y cámara Leica ICC50 W asociada al software para iPad, Leica AirLab App.

Por lo que se refiere al estudio de la longitud de las células guarda de las estomas, seguimos, básicamente las pautas señaladas por BENNERT & al. (1989:313). Para ello, procedimos a decolorar las pinnas medias de material prensado, en solución de hipoclorito sódico durante 24 horas, para, posteriormente, proceder a su deshidratación, en soluciones alcohólicas (30-96%). Finalmente, el material fue incluido en DPX, con el fin de proceder a su estudio. El tamaño se midió con un aumento de 400 x.

En el caso de la longitud del exosporio, se procedió a la inclusión del contenido de esporangios maduros en DPX sin tratamiento alguno. La toma de medidas se realizó con un aumento de 1000 x, siguiendo las pautas de, entre otros autores, (PTÁČEK, 2018:25). En el presente estudio no se han incluido individuos híbridos, habiéndose excluido los mismos, por observación de un contenido esporangial con un elevado número de esporas abortadas.

En todos los casos, el número de medidas fue de 30 por muestra. Los resultados de este estudio se expresan como la media y el intervalo de la media más menos dos veces la desviación típica, o bien se indica la media y la desviación típica.

El análisis estadístico de los datos para este estudio, se generó tanto con Microsoft Excel como utilizando el software *Real Statistics Resource Pack* (Versión 6.8, 2013-2020) Charles Zaiontz [www.real-statistics.com].

Usamos la prueba de Shapiro Wilk para la normalidad y la de Levene (homocedasticidad) para determinar si se satisfacen los criterios de la prueba ANOVA o los de pruebas no paramétricas como Kruskal Wallis, para un nivel de confianza del 95%. Además, se ha tenido en cuenta la desigualdad en los tamaños de muestra del conjunto de individuos por taxones y por ello se ha preferido aplicar prioritariamente la prueba de

búsqueda del nivel de significación ANOVA de Welch y para el contraste post hoc su prueba asociada, Games Howell. Cumpliéndose la homocedasticidad pero no claramente la normalidad, se consideró como preferente el análisis mediante la prueba de Kruskal Wallis, asociada a las pruebas de Nemenyi, Dunn y Mann Whitney exact.

Para aproximarnos a los criterios que satisfacen las pruebas de, por un lado, ANOVA de Welch, y por otro, en relación a la homocedasticidad, Kruskal Wallis, se procedió al ajuste de los datos mediante transformación de raíz cuadrada. En último término también se valoró ANOVA de un factor, con contraste por pares de Tukey HSD. Todas ellas tuvieron la corrección de Bonferroni.

Para el análisis citológico, el material fue fijado en Farmer (alcohol absoluto: ácido acético glacial, 3:1) durante 48 horas, entre -5 y 10°C, y posteriormente, siguiendo las pautas indicadas por otros entre autores (MANTON: 1950), fue teñido con carmín acético al 2%. Previamente a su observación, se procedió al aplastamiento de los esporangios inmaduros teñidos, en ácido acético (solución al 45%).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos de las localidades de los individuos analizados y los resultados citogenéticos y micromorfológicos se muestran en el apéndice 1.

### CITOGENÉTICOS

Para el establecimiento del número cromosómico concreto en determinados individuos se han tenido dificultades, como ya ha sido también indicado por MANTON (1950: 112) y JESSEN (1991: 31), entre otros. El conteo impreciso, sin embargo, nos ha permitido establecer el nivel de ploidía y relacionar “a priori” una macromorfología, siguiendo los criterios marcados por PRADA (1986); DOSTÁL & REICHSTEIN (1984); PÉREZ CARRO (1990) con los tres niveles (4x, 6x y 8x) señalados para el complejo VIDA & MOHAY (1980); DOSTÁL & REICHSTEIN (1984). Los datos obtenidos se muestran en el apéndice mencionado anteriormente.

La figura 2 muestra los resultados del análisis de células madres de esporas de algunos de los especímenes.

#### Resultados con relación a *C. dickieana*

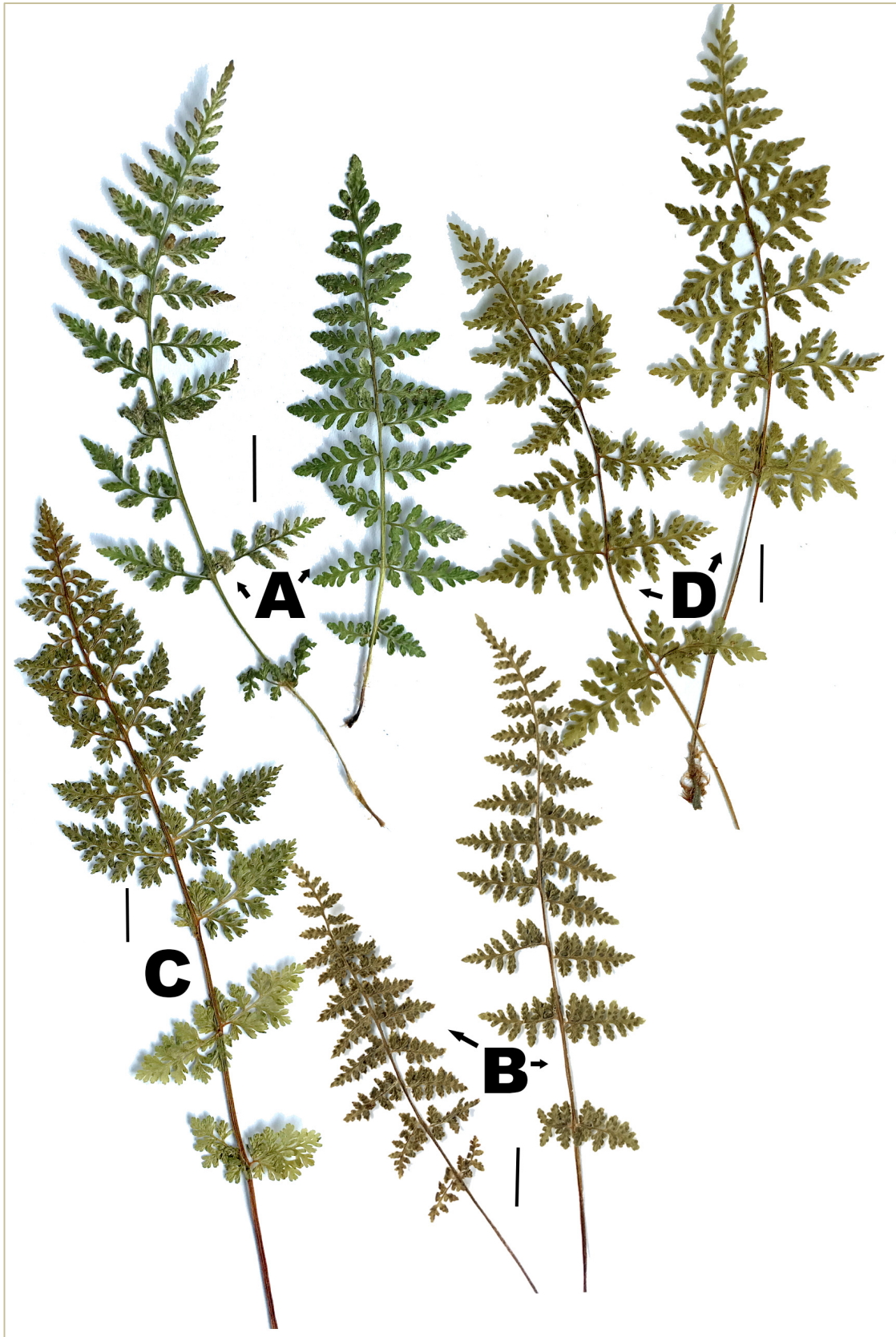
Solo se ha podido estudiar un único individuo de *C. dickieana* que hemos entendido que podría ser interesante comparar en sus datos micromorfológicos, como un representante tetraploide, con los demás taxones que nos hemos planteado estudiar, apreciando de antemano la escasa relevancia de estas comparaciones basadas en un único individuo. Para este taxón se han señalado dos citotipos, el tetraploide y el hexaploide (VIDA & MOHAY, 1980; DOSTÁL & REICHSTEIN, 1984). El individuo analizado ha resultado tetraploide (n=84 II).

#### Resultados con relación a *C. fragilis* subsp. *fragilis*

Encontramos una correspondencia del tipo morfológico *C. fragilis* subsp. *fragilis* con el citotipo tetraploide. Son varios los autores que reportan para *C. fragilis* s.str. (MANTON, 1950; LÖVE & KJELLQVIST, 1972; VIDA, 1974; VIDA & MOHAY, 1980; DOSTÁL & REICHSTEIN, 1984; QUEIRÓS, 1991; IVANOVA & PIEKOS'-MIRKOWA,

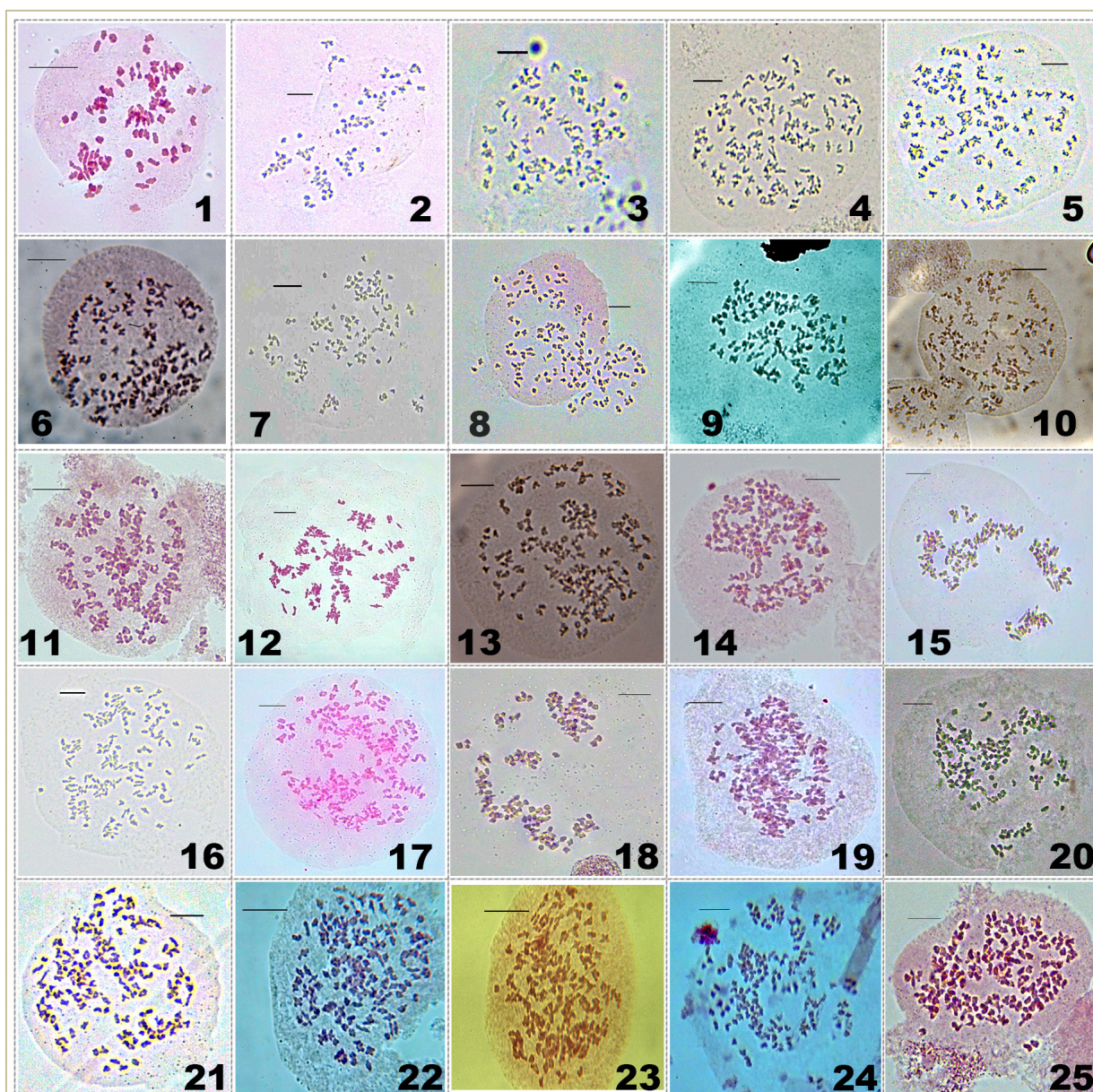
2003; KAWAKAMI & al., 2010; PTÁČEK, 2018; HANUŠOVÁ & al., 2019, entre otros) el citotipo mencionado (4x). Por otro *C. fragilis* se ha asociado a otro citotipo, el

hexaploide (entre los más recientes HANUŠOVÁ & al., 2019).



**Fig. 1.** Fotografías de algunas frondes de los taxones tratados. Numeración de los especímenes en apéndice 1. **A:** *C. fragilis* subsp. *fragilis*, espécimen 5; **B:** *C. fragilis* subsp. *huteri*, espécimen 14; **C:** *C. alpina*, espécimen 9; **D:** *C. pseudoregia*, espécimen 27. Barra de escala= 1 cm.





**Fig. 2.** Microfotografías de células madres de esporas en meiosis I, de algunos de los especímenes estudiados: **4x:** 1- *C. dickieana* n=84 II (especímen 1); 2- *C. fragilis* subsp. *fragilis* n= 84 II, (especímen 4); 3- *C. fragilis* subsp. *fragilis* n= 84 II, (especímen 5); **6x:** 4- *C. alpina* n= 126 II, (especímen 7); 5- *C. alpina* n= 126 II, (especímen 6); 6- *C. alpina* n=c. 126 II, (especímen 10); 7- *C. fragilis* subsp. *huteri* n= 126 II, (especímen 12); 8- *C. fragilis* subsp. *huteri* n= 126 II, (especímen 11); 9- *C. fragilis* subsp. *huteri* n=c. 126 II, (especímen 17); 10- *C. fragilis* subsp. *huteri* n=c. 126 II, (especímen 16); 11- *C. fragilis* subsp. *huteri* n=c. 126 II, (especímen 13); 12- *C. fragilis* subsp. *huteri* n=c. 126 II, (especímen 15); **8x:** 13- *C. pseudoregia* n=c. 168 II, (especímen 43); 14- *C. pseudoregia* n=c. 168 II, (especímen 33); 15- *C. pseudoregia* n=164 II, (especímen 24); 16- *C. pseudoregia* n= 168 II, (especímen 26); 17- *C. pseudoregia* n= 164 II, (especímen 39); 18- *C. pseudoregia* n=c. 164 II, (especímen 38); 19- *C. pseudoregia* n=160 II, (especímen 19); 20- *C. pseudoregia* n=163 II, (especímen 22); 21- *C. pseudoregia* n= 165 II, (especímen 37); 22- *C. pseudoregia* n=c.168 II, (especímen 41); 23- *C. pseudoregia* n= 164 II, (especímen 30); 24- *C. pseudoregia* n=c.168 II, (especímen 40); 25- *C. pseudoregia* n=c.168 II, (especímen 34). Barra de escala 10  $\mu$ m

### Resultados con relación a *C. fragilis* subsp. *huteri*

En este estudio hemos observado formas de esta subespecie apenas glandulares y otras netamente glandulares y por ello mas asimilables al tipo morfológico *C. fragilis* subsp. *huteri*. Todos estos individuos se muestran hexaploides (ver apéndice 1).

Las escasas diferencias morfológicas entre las formas apenas glandulares de *C. fragilis* subsp. *huteri* y las asimilables a *C. fragilis* subsp. *fragilis*, nos inducen a pensar sin generalizar, que parte de los citotipos

hexaploides puedan identificarse como *C. fragilis* subsp. *fragilis*, sin ser tales. Ante estas dificultades en la determinación, tal vez el nivel taxonómico mas adecuado para este taxón, sea el subespecífico, criterio no coincidente con el sugerido por SHMAKOV & al. (2018: 293) quien es partidario del específico *C. huteri*. Es necesario resaltar que para *C. fragilis* subsp. *huteri* se ha sugerido, basándose en el tamaño esporal, el nivel octoploide (PRADA & SALVO,1985). RUMSEY in TENNANT (2917: 263) sugiere para este taxón al menos el



nivel hexaploide cuando no el octoploide. Sin embargo RASBACH, REICHSTEIN & SCHNELLER (in DOSTAL & REICHSTEIN, 1984:195) indican un nivel tetraploide.

### Resultados con relación a *C. alpina*

Los individuos que hemos asimilado por su morfología general a *C. alpina* se muestran en nuestro estudio hexaploides (ver apéndice 1). Este nivel ha sido ampliamente indicado para el taxón (entre otros MANTON, 1950; VIDA, 1974; DOSTAL & REICHSTEIN, 1984; JESSEN, 1991; HANUŠOVÁ & al., 2019), aunque estos últimos indican por primera vez el citotipo tetraploide y aunque más raros, el pentaploide y el octoploide para *C. alpina*.

Los individuos pentaploides son presumiblemente híbridos y no los hemos considerado en el presente estudio.

### Resultados con relación a *C. pseudoregia*

Por último, aquellos individuos con morfología asimilable a *C. pseudoregia*, se han mostrado en nuestro estudio octoploides. De entre los datos que hemos encontrado sobre los individuos de citotipo octoploide, destacan, por describir algún detalle más aparte de resaltar el carácter intermedio entre *C. fragilis* y *C. alpina*, los indicados por JESSEN (1991:30-31). Estos están referenciados a material procedente de Bulgaria y Suiza. La imagen que muestra este autor se corresponde bien con la descripción del taxón que nos ocupa. Nos reafirmamos en sus apreciaciones sobre el merecimiento, al menos del rango subespecífico para estos individuos, tanto por su morfología, como por su nivel de ploidía e incluso por sus tamaños esporales y estomáticos (ver más adelante). Otras referencias al carácter intermedio anteriormente mencionado, son también señaladas por DOSTAL & REICHSTEIN (1984). Existen también menciones al citotipo octoploide por parte de HANUŠOVÁ & al. (2019).

### MICROMORFOLÓGICOS

En cuanto a la **longitud del exosporio**, los datos agrupados por especies se muestran en la figura 3.

Los resultados de los análisis de acuerdo con las pruebas de Shapiro Wilk y Levene (tras la normalización) son como sigue:

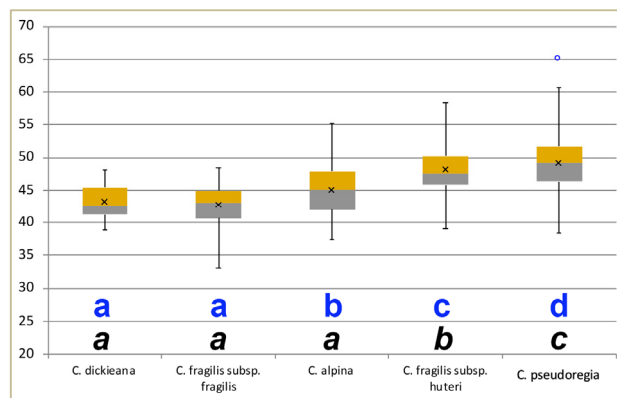
Kruskal Wallis ( $\chi^2 = 304,23$ , d.f.=4,  $p=0,000$ ); Anova de Welch ( $F=123,26$ , d.f.=4,  $p=0$ ). Con menor consistencia, por la falta de normalidad, los resultados de la prueba ANOVA son ( $F=106,88$ , d.f.=4,  $p=0,000$ ). Todas ellas por lo tanto detectaron significación.

Las comparaciones post hoc entre parejas son:

La prueba de Nemenyi señala que las parejas *Cystopteris dickieana* - *Cystopteris fragilis* subsp. *fragilis* y *C. dickieana* - *C. alpina* no muestran significación ( $p>0,05$ ). La prueba Mann Whitney exact y la de Dunn reducen la no significación únicamente a la pareja *Cystopteris dickieana* y *Cystopteris fragilis* subsp. *fragilis*; al igual que la prueba de Games Howell (Anova de Welch).

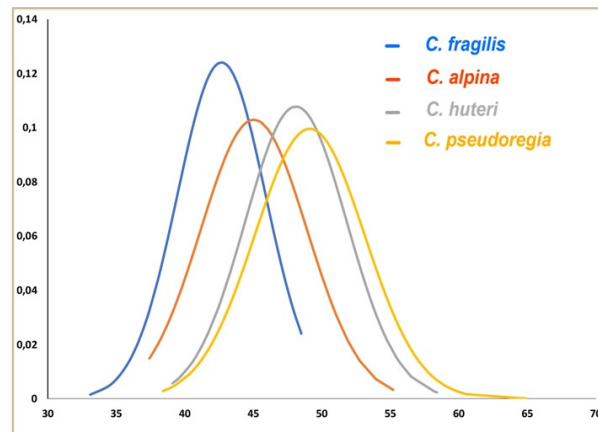
Todas las demás comparaciones se muestran significativas en las diferencias entre las medianas ( $p<0,05$ ), siendo la pareja *C. fragilis* subsp. *huteri* - *C. pseudoregia* la que muestra la menor significación en los contrastes empleados. Se debe recordar que el estudio de *C. dickieana* está basado en un único individuo. Los resultados de Games-Howell e incluso los de Tukey HSD muestran resultados muy semejantes. La eliminación en

las comparativas de *C. dickieana* conduce, en cuanto a significación se refiere, a resultados semejantes.



**Fig. 3.** Diagrama de cajas y bigotes de la longitud del exosporio ( $\mu\text{m}$ ). Las letras indican los resultados como sigue: en negro Kruskal Wallis: prueba de Nemenyi; en azul Kruskal Wallis: pruebas de Dunn y Mann Whitney. Los taxones etiquetados con la misma letra no difieren significativamente ( $p>0.05$ ).

Si se comparan los datos individuales o se hace un análisis de las curvas normales teóricas (ver figura 4), se observan especímenes con datos no concordantes (ver, por ejemplo: espécimen 10 asignado a *C. alpina*; espécimen 17 asignado a *C. fragilis* subsp. *huteri*; esp. 26,33,37,38,39 asignados a *C. pseudoregia*, en apéndice 1); por otro lado, la superposición entre las curvas de las parejas *C. fragilis* subsp. *fragilis* y *C. alpina* o entre *C. fragilis* subsp. *huteri* y *C. pseudoregia* impiden el uso de este carácter para distinguir las parejas de taxones citadas.



**Fig.4.** Representación gráfica de las curvas normales relacionadas con la longitud del exosporio ( $\mu\text{m}$ ) de los diferentes taxones tratados, excluidos los datos de *C. dickieana*.

Sin embargo, la superposición menor entre las curvas de *C. fragilis* subsp. *fragilis* (supuestamente tetraploide) y *C. fragilis* subsp. *huteri* (supuestamente hexaploide) por un lado y *C. fragilis* subsp. *fragilis* y *C. pseudoregia* (supuestamente octoploide) por otro, puede permitir el uso de este carácter para distinguir las parejas citadas, dado que pueden mostrarse macromorfológicamente semejantes. En este sentido, hay que señalar que VIDA (1974) indica que la determinación de los citotipos mediante la longitud del exosporio no es siempre confiable, al igual que PTÁČEK (2018:63-64) quien

señala la superposición amplia en los histogramas entre los citotipos tetraploides y hexaploides.

Algunos comentarios sobre las ciertas dificultades en la determinación individual mediante el uso de tamaños esporales, son señalados para el agregado *Asplenium trichomanes* L. por EKRT & STECH (2008: 337) dado que señalan superposiciones en el tamaño de las esporas. Sin embargo, según PANGUA & al. (1989) o SÁEZ (2000), entre otros, esta superposición no se produce entre

taxones de niveles de ploidía diferentes, en el análisis que sobre el mismo agregado realizan.

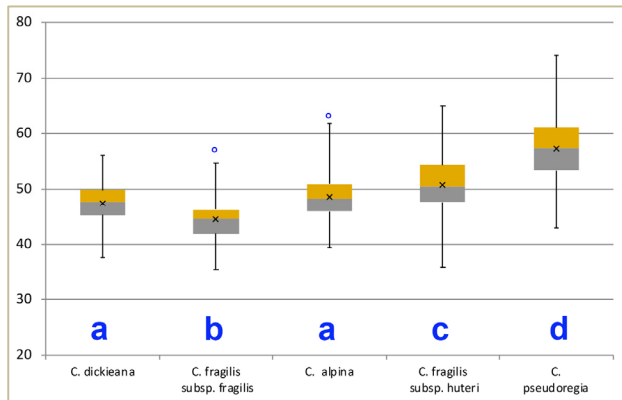
El uso combinado de la longitud del exosporio y el propio de las células guarda, puede ayudar a resolver estas situaciones ambiguas.

Por último, se agrega la tabla 1, en ella se comparan los tamaños esporales de nuestros datos y los obtenidos por otros autores. Los datos de *C. dickieana*, no han sido incluidos en la tabla comparativa y son como sigue: 43,2  $\mu\text{m}$  - 2,7 ( $\bar{X}$  - s).

LONGITUD EXOSPORIO $\mu\text{m}$							
Fuente	<i>C. fragilis</i> 4x	4x **	<i>C. alpina</i> 6x	6x**	<i>C. huteri</i> 6x	<i>C. pseudoregia</i> 8x	8x**
1	40-42,7-44,4		40,5-45-47,8		45,7-48,1-50,8	45,7-49,1-52,3	
2	34,7-41,9-44,9			40,04-44,7-49,9			
3		32-42		38-48			43-53
4	38,48-48,6						
5		37-45		46-53			
6		(27)33-42(48)	(39) 42-48	(28)36-48(54)			(33)39-54(60)
7							50,4 -52-54,7
8					c. 50 *		
9		35-55*	45-50		44-55 (60) *		

**Tabla 1.** Tabla comparativa del tamaño de esporas (longitud del exosporio en  $\mu\text{m}$ ) de los diferentes individuos analizados, -clasificados de acuerdo a sus rasgos macromorfológicos y nivel de ploidía (ver apéndice 1)-, con los datos presentes en la bibliografía consultada. **1.** datos propios ( $\bar{X}$  mínima-  $\bar{X}$  de medias-  $\bar{X}$  máxima); **2.** PTÁČEK, 2018:61; **3.** BLASDELL, 1963:385 **4.** BABAEI & HAJI MONIR, 2015:20; **5.** MICKEL & TEJERO, 2004:117; **6.** DOSTÁL & REISCHTEIN in HEGI, 1984:193; **7.** JESSEN, 1991:32 ( $\bar{X}$  mínima-  $\bar{X}$  de medias-  $\bar{X}$  máxima); **8.** TENNANT, 2017:260; **9.** PRADA, 1986 y PRADA & SALVO, 1985:466. \* Sin determinación de nivel de ploidía. \*\* Los datos sin clara asignación de taxón solo figuran como nivel de ploidía.

En cuanto a la **longitud de las células guarda**, los datos de cada espécimen se encuentran también recopilados en el apéndice 1. Los datos, agrupados por especies se muestran en la figura 5.



**Fig. 5.** Diagrama de cajas y bigotes de la longitud de las células guarda ( $\mu\text{m}$ ). Las letras indican los resultados de las pruebas tanto de Anova de Welch (contraste Games Howell), como de ANOVA- Tukey HSD. Los taxones etiquetados con la misma letra no difieren significativamente ( $p > 0.05$ ).

De acuerdo con las implicaciones que determinan las pruebas de Shapiro Wilk y Levene, tras la normalización, los resultados de las pruebas de significación aplicadas son como sigue:

Anova de Welch ( $F=317,55$ , d.f.=4,  $p=0$ ); la prueba Kruskal Wallis no se ha considerado en primer lugar pues no hay homogeneidad de varianzas; no obstante sus resultados son ( $\chi^2 =617,4$ , d.f.=4,  $p=0,000$ ). Por otro lado, ANOVA muestra los siguientes resultados ( $F=282,02$ , d.f.=4,  $p=0,000$ ). En cualquier caso, todas ellas indican una diferencia significativa entre los grupos analizados

Las pruebas post hoc aplicadas muestran los siguientes resultados:

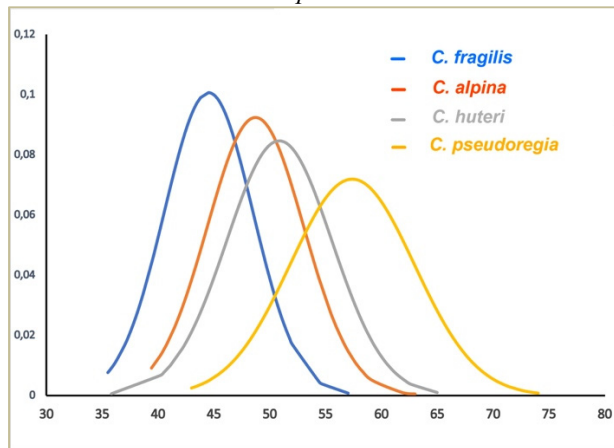
*C. dickieana* y *C. alpina* no muestran diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), mientras que las restantes parejas difieren significativamente, en las pruebas tanto de Games Howell como en la de Tukey HSD ( $p=0.000$ ). La pareja *C. alpina*-*C. fragilis* subsp. *huteri* muestra la menor significación. Se recuerda que *C. dickieana* está basado en un único espécimen por lo que, si no se le tiene en cuenta, todos los demás taxones se muestran significativamente diferentes. Si se excluye de las comparativas a *C. dickieana*, éstas, en cuanto a nivel de significación, muestran resultados semejantes.

Observando los datos individualizados, se detectan algunas dificultades a la hora de precisar el nivel de ploidía mediante el uso de este carácter (ver casos: espécimen 14 para *C. fragilis* subsp. *huteri*; espécimen 9 para *C. alpina*; espécimen 41 para *C. pseudoregia*); por otro lado, observando las curvas teóricas (figura 6) se detectan áreas de superposición entre todos los taxones, con menor incidencia entre *C. fragilis* subsp. *fragilis* y *C. pseudoregia*. A pesar de estos hechos, este carácter permite una óptima discriminación entre las parejas de taxones con similitud macromorfológica, como son *C. fragilis* subsp. *fragilis* - *C. pseudoregia* o *C. fragilis* subsp. *fragilis* - *C. fragilis* subsp. *huteri*, en menor grado.

Hay que señalar que, a pesar de no encontrar ninguna referencia en la bibliografía consultada, el uso, como carácter discriminatorio, de las células guarda, puede resultar útil tanto para distinguir especies como para deducir su nivel de ploidía, aunque no sin alguna dificultad. La tabla 2 muestra nuestros datos.

Por último, analizando el diagrama de dispersión, longitud células guarda frente a longitud exosporio (ver figura 7), se observa la distribución de los diferentes

taxones en posiciones diferenciadas, sobre todo para *C. pseudoregia* y en menor medida para *C. fragilis* subsp. *huteri* en relación con *C. alpina*.



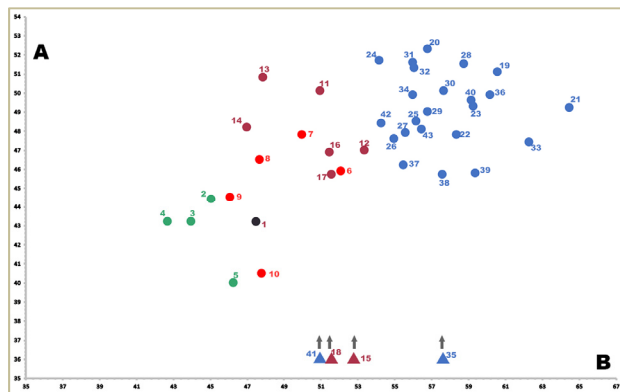
**Fig. 6.** Representación gráfica de las curvas normales relacionadas con la longitud de las células guarda ( $\mu\text{m}$ ) de los diferentes taxones tratados, excluidos los datos de *C. dickieana*.

Longitud células guarda en $\mu\text{m}$ ( $\bar{X}$ mínima- $\bar{X}$ de medias- $\bar{X}$ máxima)			
<i>C. fragilis</i> 4x	<i>C. alpina</i> 6x	<i>C. huteri</i> 6x	<i>C. pseudoregia</i> 8x
42-7-44,5-46,3	46,1-48,7-52,1	47-50,9-53,4	51-57,4-64,5

**Tab. 2.** Tabla comparativa de las medias del tamaño de las estomas (longitud de células guarda) de los diferentes individuos analizados, clasificados de acuerdo con sus rasgos macromorfológicos y nivel de ploidía (ver apéndice 1).

El coeficiente de correlación de Spearman para estas dos características es  $\rho=0,54658$ ,  $p(2 \text{ colas}) = 0,00032$  por lo que consideramos como estadísticamente significativa (de valor medio) dicha correlación.

El coeficiente de Pearson es de  $r=0,62$   $p=0,000026$ .



**Fig. 7.** Gráfico-diagrama de dispersión. **A:** Long. exosporio en  $\mu\text{m}$ ; **B:** Long. cél. guarda en  $\mu\text{m}$ . Símbolos: ● *C. fragilis* subsp. *fragilis*; ● *C. alpina*; ● *C. fragilis* subsp. *huteri*; ● *C. pseudoregia*; ● *C. dickieana*. ▲: especímenes sin esporas maduras; usamos el símbolo ↑ para indicar su posición relativa. La numeración está correlacionada con especímenes del apéndice 1.

## CONCLUSIONES

Se propone como vía para seguir investigando, que algunas de las formas hexaploides, con morfología propia de *C. fragilis* subsp. *fragilis*, pudieran ser variantes de *C. fragilis* subsp. *huteri* escasamente glandulares. El nivel hexaploide de estos individuos está respaldado por una combinación de características relacionadas con los tamaños esporal y estomático. Ante las dificultades en la determinación de estos individuos, sugerimos que el nivel taxonómico más acorde sea el subspecífico para *C. huteri*.

Se reafirma/confirma el nivel tetraploide para *C. fragilis* subsp. *fragilis* y el hexaploide para *C. alpina*. Por otro lado, se ha encontrado una alta correspondencia entre el taxón *C. pseudoregia* y el nivel octoploide. Se considera adecuado el rango específico para este taxón, basándonos en la correspondencia mencionada, en la morfología general y en la combinación de tamaño estomático y esporal.

Por último, hay que indicar que el tamaño sobre todo estomático y el esporal, contribuyen en buena medida a distinguir las parejas de taxones semejantes siguientes: *C. fragilis* subsp. *fragilis* de *C. fragilis* subsp. *huteri* y *C. fragilis* subsp. *fragilis* o *C. alpina* de *C. pseudoregia*.

**Agradecimientos:** Al Dr. Charles Zaiontz, promotor del sitio web *Real Statistics Using Excel*, por proporcionar de forma desinteresada, tutoriales y software que complementa a Microsoft Excel.

## BIBLIOGRAFÍA

- BABAE, G & M. HAJI MONIRI (2015) First chromosome number report for *Cystopteris fragilis* (Cystopteridaceae: Pteridophyta) in Iran. *Fern Gaz.* **20**(1):19-22.
- BENNERT, H.W., R.E.G. PICHI SERMOLLI, H. RASBACH, K. RASBACH & T. REICHSTEIN (1989) *Asplenium × helii* Lusina, the valid name for the hybrids between *A. petrarcae* (Guérin) DC. and *A. trichomanes* L. (Aspleniaceae, Pteridophyta). II. Detailed description and illustrations. *Webbia* **43** (2): 311-337.
- BLASDELL RF. (1963) A Monographic Study of the Fern Genus *Cystopteris*. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* **21**: 1-102.
- DOSTAL J.& T. REICHSTEIN (1984): *Cystopteris* In: HEGI, G. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa* Ed. 3 Band1. Teil 1 (Pteridophyta) per Kramer K.U: (edit: ed aut.), Berlin & Hamburg, Germany: Verlag Paul Parey, 192-201.
- EKRT, L. & M. ŠTECH (2008) A morphometric study and revision of the *Asplenium trichomanes* group in the Czech Republic. *Preslia* **80**: 325-347
- HANUŠOVÁ K., M. ČERTNER, T. URFUS, P. KOUTECKÝ, J. KOŠNAR, C.J. ROTHFELS, V. JAROLÍMOVÁ, J. PTÁČEK, L. EKRT (2019) Widespread co-occurrence of multiple ploidy levels in fragile ferns (*Cystopteris fragilis* complex; *Cystopteridaceae*) probably stems from similar ecology of cytotypes, their efficient dispersal and inter-ploidy hybridization. *Ann Bot.* **123**(5):845-855.
- IVANOVA D., M. PIĘKOŚ-MIRKOWA (2003) Chromosome numbers of Polish ferns. *Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.* **45**: 93-99.
- JERMY, A.C. & L. HARPER (1970) Spore morphology of the *Cystopteris fragilis* complex. *Brit.Fern. Gaz.* **10**(4): 211-213.
- JESSEN, S. 1991 New records of pteridophytes in eastern Europe. *Farnblätter* **23**: 14-47.
- KAWAKAMI SM, S. KAWAKAMI, J. KATO, K. KONDO, S.V. SMIRNOV., O. DAMDINSUREN (2010) Cytological



- study of a fern *Cystopteris fragilis* in Mongolian Altai. *Chromosome Botany* 5: 1-3.
- LOVE, A. & E. KJELLQVIST (1972) Cytotaxonomy of Spanish Plants. 1. Introduction. *Pteridophyta and Gymnospermae. Lagascalia* 2(1): 23-35.
- LOVIS, J.D. (1977). Evolutionary Patterns and Processes in Ferns. In R.D. Preston & H.W. Woolhouse (Eds.), *Advances in Botanical Research* 4: 229-415.
- MANTON, I. (1950) Problems of Cytology and Evolution in the Pteridophyte. Cambridge University Press, 316 pp.
- MICKEL J.T., J.D. TEJERO-DÍEZ (2004) Three New Species of Ferns (Woodsiaceae and Polypodiaceae) from Mexico. *Brittonia* 56: 115–120.
- PANGUA, E., C. PRADA, A. MARQUINA (1989) Las subespecies de *Asplenium trichomanes* L. en la Península Ibérica e Islas Baleares. *Bot. Complutensis* 14: 87-108.
- PÉREZ CARRO, F.J. (1990) *Flora Pteridofítica de la Cordillera Cantábrica y sus estribaciones*. Tesis doctoral. Facultad de Biología, Universidad de León.
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycopods and ferns. *Journal of Systematics and Evolution* 54: 563–603.
- PRADA, C. & A.E. SALVO (1985) Notas sobre *Cystopteris* Bernh. *Anales Jard. Bot. Madrid* 41(2): 466.
- PRADA, C. (1986). *Cystopteris* Bernh. In Flora Ibérica vol. I, S. CASTROVIEJO & AL. (eds.), Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid. 575 pp.
- PTÁČEK, J. (2018) *Mikroevoluční procesy u Cystopteris fragilis* agg. Praha. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra botaniky. Vedoucí práce Urfus, Tomáš.
- QUEIRÓS, M. (1991) Chromosomic studies on some *Pteridophyta* from Portugal, II. *Collectanea Botanica* 20:20-33.
- QUEIRÓS, M. (1997) Chromosomic studies on some *Pteridophyta* from Portugal, III. *Collectanea Botanica* 23:73-77.
- QUEIRÓS, M., J. ORMONDE & I. NOGUEIRA (1988) Notas cariológicas e fitogeográficas de algumas *Pteridophyta* de Portugal. I *Acta Bot. Malacitana* 13: 121-140
- QUINTANILLA, L.G. & J. AMIGO (1999). Distribución del género *Cystopteris* Bernh. (*Athyriaceae*, Pteridophyta) en Galicia (NO de la Península Ibérica). *Nova Acta Ci. Compostelana (Biol.)* 9: 117-124.
- RIVAS MARTÍNEZ, T.E. DÍAZ, FERN. PRIETO, LOIDI & PENAS. (1984) *La vegetación de la alta montaña cantábrica. Los Picos de Europa*. Ediciones Leonesas, León, 295 pp.
- RIVAS MARTÍNEZ. S., T.E. DIAZ, F. FERNANDEZ GONZALEZ, J. IZCO, LOIDI, M. LOUSÁ & PENAS (2002) Vascular plant communities of Spain and Portugal. Addenda to the syntaxonomical checklist of 200. *Itinera Geobotanica* 15(2):433-922
- ROCHA AFONSO, M. (1982) Contribuição para o estudo de genero *Cystopteris* Bernh. em Portugal continental e insular. *Bol. Soc. Brot. sér.2*, 55: 337-352.
- ROTHFELS CJ, M.D. WINDHAM, KM. PRYER (2013) A plastid phylogeny of the cosmopolitan fern family *Cystopteridaceae* (*Polypodiopsida*). *Systematic Botany* 38: 295–306.
- ROTHFELS, C.J., M.A. SUNDUE, L.-Y KUO, A. LARSSON, M. KATO, E. SCHUETTEL, & K.M. PRYER, (2012) A revised family-level classification for eupolypod II ferns (*Polypodiidae: Polypodiales*). *Taxon* 61: 515–533.
- SÁEZ, L. (200) El complex d'*Asplenium trichomanes* L. (*Aspleniaceae*, *Pteridophyta*) al nord-est de la península Ibérica. *Orsis* 15: 27:43
- SHMAKOV A.I., A.A. BATKIN, A.V. VAGANOV (2018) Synopsis of the genus *Cystopteris* Bernh. (*Cystopteridaceae*). *Ukrainian Journal of Ecology*. 8(4):290-297
- TENNANT, D.J. (2017) *Cystopteris fragilis* subsp. *huteri*, a taxon new to the British Isles and related taxa in the *Cystopteris fragilis* complex: *Cystopteridaceae* (*Polypodiopsida*). *Fern Gaz.* 20(6): 255-266.
- VIDA, G. & MOHAY, J. (1980) Cytophotometric DNA studies in polyploid series of the fern genus *Cystopteris* Bernh. *Acta. Bot. Acad. Sci. Hung.* 26: 455–461.
- VIDA, G. (1974) Genome analysis of the European *Cystopteris fragilis* complex. 1: Tetraploid taxa. *Acta. Bot. Acad. Sci. Hung.* 20: 181–192.

**APÉNDICE 1: LOCALIDADES DE PROCEDENCIA DEL MATERIAL ESTUDIADO Y DATOS OBTENIDOS TRAS SU ANÁLISIS** (Todo el material ha sido recogido por los autores)

ESPÉCIMEN	Número de cromosomas meiosis (n) / NIVEL DE PLOIDÍA	LONGITUD DE LA ESPORA en $\mu\text{m}$ ( $\bar{X}$ - $\sigma$ )		LONGITUD DE LAS CÉLULAS GUARDA en $\mu\text{m}$ ( $\bar{X}$ - $\sigma$ )	
1. ● <i>Cystopteris dickieana</i> . GUADALAJARA: 30TVL8267, prox. Villacadima, 1350 m, 2-VI-2018.	n= 84 II / 4x	43,2	2,7	47,5	4,1
2. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>fragilis</i> . CANTABRIA: 30TUN68, Sotres a Andara, 1400 m, 2-VII-1989.	n= 84 II / 4x	44,4	2,9	45,1	2,6
3. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>fragilis</i> . BURGOS: 30TVN4780, Portillo de Lunada, Picón del Fraile, 1400 m, 25-VIII-1996.	n=c. 84 II / 4x	43,2	2,4	44	3,4
4. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>fragilis</i> . BARCELONA: 31TDG1083, Coll de Pal, 2100 m, 21- VIII-2019.	n= 84 II / 4x	43,2	3	42,7	3,8
5. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>fragilis</i> . BARCELONA: 31TDG1083, Coll de Pal, 2100 m, 21- VIII-2019.	n= 84 II / 4x	40	2,9	46,3	5
6. ● <i>Cystopteris alpina</i> . LEÓN: 30TTN8866, A 2 Km de Piedrafita la Mediana 1400 m, 1-VIII-2019.	n= 126 II / 6x	45,9	2,8	52,1	5,5
7. ● <i>Cystopteris alpina</i> . BURGOS: 30TVN48, Portillo de Lunada, 1300 m, 9-VII-1995.	n= 126 II / 6x	47,8	3,5	50	3,8
8. ● <i>Cystopteris alpina</i> . BURGOS: 30TVN4272, Pto. Estacas de Trueba, 1200 m, 10-VII-1997.	n=c. 126 II / 6x	46,5	3,8	47,7	3,1
9. ● <i>Cystopteris alpina</i> . CANTABRIA: Entre Sotres y Andara, 1600 m, 2-VII-1989.	n= 126 II / 6x	44,5	2,5	46,1	2,7
10. ● <i>Cystopteris alpina</i> . CANTABRIA: Pozo de Andara, 1730 m, 2-VII-1989.	n=c. 126 II / 6x	40,5	2	47,8	3,4
11. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>huteri</i> . LEÓN: 30TTN7850, Cabornera, 1000 m, 1-VI-2019.	n= 126 II / 6x	50,1	4,2	51	3,8



12. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>huteri</i> . LEÓN: 30TTN7850, Cabornera, 1000 m, 1-VI-2019.	n= 126 II / 6x	47	3,7	53,4	4,8
13. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>huteri</i> . GUADALAJARA: 30TVL8067, Villacadima-Cantalonjas, 1400, 21-VI-1994.	n= c. 126 II / 6x	50,8	3,5	47,9	5,2
14. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>huteri</i> . GUADALAJARA: 30TVL8067, Villacadima-Cantalonjas, 1400, 21-VI-1994.	n= c. 126 II / 6x	48,2	2,7	47	4,3
15. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>huteri</i> . GUADALAJARA: 30TVL8267, prox de Villacadima, 1300, 2-VI-2018.	n= c. 126 II / 6x	Sin_esp.		52,8	3,6
16. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>huteri</i> . ALBACETE: 30SWH4956, Nacimiento río Mundo, 1070 m, 7-VI-1991.	n= c. 126 II / 6x	46,9	3	51,5	4
17. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>huteri</i> . JAÉN: 30SWG0797, Linarejos Cazorla, 1000 m, 15-IV-1994.	n= c. 126 II / 6x	45,7	2,1	51,6	3,7
18. ● <i>Cystopteris fragilis</i> subsp. <i>huteri</i> . JAÉN: 30SWG0994, cerca de Nava de San Pedro, 1200 m, 10-VI-1991.	n= c. 126 II / 6x	Sin_esp.		51,6	4,6
19. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 29TQH2966, La Cueta, 1450 m, 23-VII-1994.	n= 160 II / 8x	51,1	3,7	60,6	4,5
20. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 29TQH2966, La Cueta, 1450 m, 23-VII-1994.	n= c. 168 II / 8x	52,3	3,1	56,8	4,2
21. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TTN8260, Villanueva de la Tercia, 1200 m, 19-VIII-1990.	n= c. 168 II / 8x	49,2	2,6	64,5	5
22. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TTN7659, prox. de Poladura de la Tercia, 1250 m, VIII-1996.	n= 163 II / 8x	47,8	3,1	58,4	4,6
23. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0255, Valdeteja, 1200 m, 15-VIII-97.	n= 164 II / 8x	49,3	4,1	59,3	3,6
24. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0358, A 2 km de Tolibia de abajo, 1150 m, 20-VII-2018.	n= 164 II / 8x	51,7	3,8	54,2	3,9
25. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN4551, Besande, 1300 m, VII-2001.	n= c. 168 II / 8x	48,5	3,5	56,2	6,4
26. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN2551, Villayandre, 1050 m, 2-VI-2019.	n= 168 II / 8x	47,6	3,3	55	4,6
27. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN1771, Pto de las Señales, 1650 m, 16-VII-1995.	n= c. 168 II / 8x	47,9	3,8	55,6	5,5
28. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN1771, Pto de las Señales, 1650 m, 16-VII-1995.	n= 150 II / 8x	51,5	3,6	58,8	5,1
29. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0668, entre circo Cebolledo y lago Ausente, 1700 m, 16-VII-1995.	n= 164 II / 8x	49	4,7	56,8	4,7
30. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0668, entre circo Cebolledo y lago Ausente, 1700 m, 16-VII-1995.	n= 164 II / 8x	50,1	3,5	57,7	5,5
31. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0668, entre circo Cebolledo y lago Ausente, 1700 m, 16-VII-1995.	n= c. 168 II / 8x	51,6	5	56	5
32. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0668, entre circo Cebolledo y lago Ausente, 1700 m, 16-VII-1995.	n= c. 168 II / 8x	51,3	3,2	56,1	4,7
33. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0669, A 2 km de Estación San Isidro, 1600 m, 20-VII-2018.	n= c. 168 II / 8x	47,4	3,7	62,3	5,5
34. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0669, A 2 km de Estación San Isidro, 1600 m, 20-VII-2018.	n= c. 168 II / 8x	49,9	4,1	56	4,7
35. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . LEÓN: 30TUN0669 A 2 km de Estación San Isidro, 1600 m, 20-VII-2018.	n= c. 168 II / 8x	Sin_esp.		57,7	4,9
36. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . ASTURIAS: 30TUN38, Entre Vegarredonda y Mirador de Ordiales, 1600 m, 23-VII-1989.	n= c. 168 II / 8x	49,9	3,8	60,2	5,5
37. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . PALENCIA: 30TUN6045 Virgen del Brezo, 1450 m, 8-VI-2019.	n= 165 II / 8x	46,2	2,8	55,5	5,7
38. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . PALENCIA: 30TUN6045 Virgen del Brezo, 1450 m, 8-VI-2019.	n= c. 164 II / 8x	45,7	3,6	57,6	6,3
39. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . PALENCIA: 30TUN6045 Virgen del Brezo, 1450 m, 8-VI-2019.	n= 164 II / 8x	45,8	3,4	59,4	4,8
40. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . PALENCIA: 30TUN9057, Pico Valdecebollas, 1880 m, VIII-2013.	n= c. 168 II / 8x	49,6	3,1	59,2	4,2
41. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . CANTABRIA: 30TUN7979, Peña Sagra, 1700 m, 15-VII-1989.	n= c. 168 II / 8x	Sin_esp.		51	4,4
42. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . CANTABRIA: 30TUN6175 Pico Jano Dobarganes, 1400 m, 30-VIII-1989.	n= c. 168 II / 8x	48,4	3,8	54,3	4,6
43. ● <i>Cystopteris pseudoregia</i> . PALENCIA: 30TUN8065, A 1,5 km de Piedrasluengas, 1270 m, 15-VIII-1993.	n= c. 168 II / 8x	48,1	2,4	56,5	4,2

**Post sriptum.** Con posterioridad a la aceptación para su publicación se han obtenido nuevos datos que refuerzan las conclusiones. Se trata de los 5 individuos siguientes: Se muestra número cromosomas/nivel ploidía y longitud de la espora en  $\mu\text{m}$  ( $\bar{X}$ - $\sigma$ ):

*Cystopteris alpina*. BARCELONA: 31TDG1083, Coll de Pal, 2100 m, 21- VIII-2019. n= 126 II / 6x; 45; 2,9.

*Cystopteris fragilis* subsp. *huteri*. LEÓN: 30TTN64535603, La Vega de Robledo, 1130 m, 21-VII-2019. n= 126 II / 6x; 42,2; 1,9. **Id.** n= 126 II / 6x; 43,9; 3,5. **Id.** n= 126 II / 6x; 46,2; 3,1.

*Cystopteris pseudoregia*. LEÓN: 30TTN88256622, prox. Piedrafita la Mediana, 1350 m, 2-VIII-2019. n= 164 II / 8x; sin esporas.