



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ANATOMÍA COMPARADA DE HOJA DE CUATRO
ESPECIES DE DRYOPTERIDACEAE DEL ESTADO
DE HIDALGO, MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

SAYURI ESTEPHANIA OBLE TSUBAKI



**DIRECTOR DE TESIS:
M. en B. MARÍA EUGENIA MUÑIZ DÍAZ DE
LEÓN**

CIUDAD DE MÉXICO, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Oble

Tsubaki

Sayuri Estephania

56 83 38 93

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

307206532

2. Datos del tutor

M. en B.

María Eugenia

Muñiz

Díaz de León

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Guadalupe Judith

Márquez

Guzmán

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Aurora

Zlotnik

Espinoza

5. Datos del sinodal 3

M. en B.

María Eugenia

Muñiz

Díaz de León

6. Datos del sinodal 4

M. en C.

César Ramiro

Martínez

González

7. Datos del trabajo escrito

Anatomía comparada de hoja de cuatro especies de Dryopteridaceae del estado de Hidalgo, México

103 p.

2018

Agradecimientos

A mi tutora M. en B. María Eugenia Muñiz Díaz de León por iniciarme en el conocimiento de las plantas, principalmente de los helechos, por instruirme en las técnicas para su estudio y brindarme la oportunidad de aprender las técnicas para realizar biología molecular en helechos. Por su incontable ayuda y la paciencia que me ha tenido durante el tiempo que he estado trabajando en el laboratorio, así como por ayudarme en mi formación como bióloga e impulsarme a continuar estudiando. Por toda tu confianza, cariño y apoyo.

A la Dra. Aurora Zlotnik por sus observaciones y sugerencias sobre el tema de esta tesis, por su apoyo y consejo en la interpretación de los cortes, así como, su disposición para ayudarme a solucionar las dudas que surgían. Agradezco especialmente por sus prontas y valiosas correcciones en este manuscrito.

Al M. en C. César Ramiro Martínez por su gran apoyo en la realización del análisis molecular, su disposición para explicarme y enseñarme paso a paso las técnicas necesarias para realizarlo, y por sus valiosas observaciones sobre la interpretación de los resultados moleculares. Así mismo, agradezco sus observaciones y correcciones en el trabajo escrito.

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez y a la Dra. Susana Valencia Ávalos, por sus valiosos comentarios y acertadas correcciones para enriquecer y mejorar este manuscrito.

Al M. en C. Felipe de Jesús Eslava Silva por su gran ayuda en la obtención de las fotografías, por su apoyo y disposición en solucionar las dudas que surgían respecto a la realización de las técnicas histológicas o en la interpretación de los cortes, así como sus observaciones y recomendaciones para mejorar este manuscrito.

A la M en C. Ana Belén Adame González por sus consejos y ayuda en las técnicas de laboratorio, así como por sus pertinentes observaciones y correcciones en el trabajo escrito.

A la Dra. Karina Jiménez Durán y a la M. en C. María Berenit Mendoza Garfías por su apoyo en la obtención de las microfotografías de las esporas.

Al Biólogo Gabriel Olalde Parra por permitirme realizar el servicio social en el Programa Docente de Cactología: manejo integral de las colecciones de Cactáceas: propagación y cultivo de cactáceas y otras especies de plantas suculentas, e iniciarme en el conocimiento de las cactáceas, así como por enseñarme las técnicas de trabajo necesarias para su manejo, cultivo y propagación. Agradezco todo tu apoyo y enseñanzas, ya que el conocimiento y la experiencia adquiridos durante mi estancia en el proyecto han ayudado a mi formación como bióloga y me han permitido poder desarrollarme de mejor manera en mi quehacer como bióloga.

Al Biólogo Emmanuel Martínez por su apoyo y enseñanza en las técnicas de colecta del material empleado en esta tesis.

Dedicatoria

Esta tesis tiene una especial dedicatoria a mi abuelita que partió hace un año, ha sido una de las mujeres que más he amado y admirado, con quien compartí tantas charlas y tantos momentos especiales y de quien aprendí tantas cosas. Mami Zena, te fuiste antes de verme concluir este logro pero sé que donde quiera que tú te encuentres estas muy feliz y orgullosa de mí, además, estoy segura de que desde allá no me has abandonado y me diste el empujón que necesitaba para terminar mi tesis. Te extraño muchísimo, te llevo en mi corazón y en mis pensamientos en todo momento. ¡Te quiero mucho, Mami!

A mis padres, Elsa y Raúl, por brindarme la oportunidad de estudiar y lo más importante de estudiar lo que yo quería, por confiar en mí siempre, por su paciencia, apoyo y comprensión en especial en los momentos difíciles, pero sobre todo por su amor y su cariño infinito. A mi mamá por estar conmigo incondicionalmente en todo momento, por la confianza que me has dado, por todas tus pláticas y tus consejos, por enseñarme tanto, te admiro y te amo demasiado. A mi papá que me ha apoyado y aconsejado a pesar de la distancia, te extraño mucho y te quiero muchísimo.

A novio y futuro esposo David por todo el apoyo que me has ofrecido desde el día en que nos conocimos, por creer en mí en todo momento incluso cuando yo misma llegue a dudar de mí, por recordarme el amor que siento por la biología y del que tú te diste cuenta desde el día que me conociste. Por ser tan paciente conmigo y esperar a que concluyera esta etapa para planear una nueva etapa contigo. Por estar al pendiente de mí y escucharme siempre, por todas las pláticas que hemos tenido, por los consejos y jalones de oreja que me has dado. Gracias por estar siempre a mi lado, sobre todo cuando más lo he necesitado, por animarme y hacerme sonreír en mis malos ratos, por enseñarme que la vida se debe disfrutar y que no hay agobiarse por cosas sin sentido ni pensar tanto en ellas, por todo el amor que me has dado todos estos años. ¡Gracias por tanto, te amo, David!

A mis hermanos, Jennifer y Sebastián, para quienes espero ser un ejemplo de que pueden lograr lo que se propongan, solo hay que esforzarse y no hay que rendirse ante las dificultades. A pesar de todas nuestras diferencias, los quiero muchísimo y saben los apoyare siempre, aunque quizá no de la forma en la que esperarían.

Nuevamente, a Maru por abrirme las puertas de su laboratorio cuando apenas me conocías, aun así me recibiste y compartiste conmigo tus conocimientos que terminaron por inculcarme el amor por las plantas, en especial por los helechos. Agradezco la paciencia y la confianza que me has tenido incluso cuando te he fallado algunas veces, y que a pesar de mis momentos de crisis seguiste creyendo y confiando en mis capacidades como estudiante y no dudaste de lo que era capaz de hacer, pero sobre todo, hiciste que yo confiara más en mí. Gracias todas las charlas que hemos tenido y los consejos que me has dado, me has

enseñado mucho, además, de que me has inspirado y animado a seguir adelante en mi camino como bióloga. ¡Te admiro y te quiero mucho, Maru!

A mis amigos y compañeros del laboratorio, Felipe, Anita, César, Monse, Ivonne, Jesús, Valeria, Rosalinda, Lalo, Ricardo, Sandy, Casandra, Emmanuel, Angélica, Malena, Violeta y Sr. Ugalde por el tiempo que hemos convivido en el taller, por sus consejos y pláticas, por todos los gratos momentos que hemos pasado, gracias por su valiosa compañía que me hace sentir tan a gusto. A Ale, Paco, Gustavo, Gladis, Delia y demás personas con las que he compartido momentos agradables, por las charlas que hemos tenido durante el tiempo que llevamos de conocernos, por apoyarme y ser una inspiración para mí, gracias a todos por sus enseñanzas y sus consejos, espero sigamos construyendo buenos recuerdos.

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes.....	15
Justificación.....	18
Objetivos.....	18
Metodología.....	19
Resultados.....	25
<i>Arachniodes denticulata</i>	27
<i>Dryopteris wallichiana</i>	37
<i>Elaphoglossum peltatum</i>	48
<i>Polystichum mickelii</i>	59
Análisis morfológico de las hojas.....	72
Análisis molecular.....	74
Análisis de resultados.....	75
Discusión.....	82
Conclusiones.....	89
Bibliografía.....	90

Resumen

La familia Dryopteridaceae es una de las familias más diversas de helechos, y que de acuerdo a los recientes análisis filogenéticos basados en datos moleculares se considera una familia monofilética, aunque las sinapomorfias morfo-anatómicas no han sido definidas exitosamente debido a que los estudios anatómicos dentro de la familia son escasos. Por esta razón, esta tesis tuvo como objetivo analizar y describir la anatomía de la hoja de *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana*, *Elaphoglossum peltatum* y *Polystichum mickelii* del estado de Hidalgo, con la finalidad de contribuir al conocimiento morfo-anatómico de la familia Dryopteridaceae e identificar caracteres anatómicos que contribuyeran a definir a la familia y delimitar anatómicamente a las subfamilias. Además, se realizó un estudio molecular de las especies estudiadas, con el objetivo de robustecer los resultados morfo-anatómicos presentados.

Para la descripción de los ejemplares, se tomaron medidas de la morfología externa de las hojas y se construyó un dendograma que reflejo el grado de similitud entre las hojas de las especies estudiadas. En la parte anatómica se realizaron cortes a mano libre y cortes histológicos de pecíolo, raquis y lámina para observar los tejidos que las conforman, así como, aclarados de las pinnas con NaOH para observar los tipos de venación y laminillas con el desprendimiento de cutícula e indumento para describir los patrones epidérmicos, estimar densidades epidérmicas, describir los tipos de estomas y el indumento. Para el análisis molecular se realizó la extracción del ADN mediante el método CTAB 2%, se amplificó y secuenció con base en los protocolos establecidos para estos procedimientos, y posteriormente se analizó mediante el Método Bayesiano para obtener el cladograma correspondiente.

En las cuatro especies se pudieron identificar caracteres anatómicos similares que ayudan a definir a la familia, y que principalmente se encuentran en el sistema vascular del pecíolo como son la presencia de numerosos haces vasculares, rodeados por la banda circumendodermal y el xilema en forma de hipocampo. No obstante, tanto la morfología externa, como la anatomía de estas especies, revelaron dos grupos bien definidos; el primero formado por *Elaphoglossum peltatum* y que se caracteriza por presentar hojas dimórficas, soros acrosticoides, estomas copolocíticos y un comportamiento de los haces vasculares diferente al resto de las especies estudiadas. El segundo grupo está formado por *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii* y se caracteriza por tener hojas monomórficas, soros redondeados, estomas anisocíticos y un comportamiento de los haces vasculares del pecíolo y raquis similar entre ellos.

Para estas especies los grupos obtenidos con base a los resultados morfo-anatómicos coinciden con los clados que se obtuvieron mediante el análisis molecular y podrían ser útiles para definir a dos de las subfamilias de Dryopteridaceae, ya que a la subfamilia Elaphoglossoideae la representa *Elaphoglossum peltatum*, mientras que la subfamilia Dryopteridoideae está representada por *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii*.

Introducción

Los helechos son un grupo de plantas vasculares que junto con las licofitas (licopodios, *Selaginella* e *Isoëtes*) comúnmente se conocen como “pteridofitas”. Se caracterizan por no formar flores, ni producir frutos o semillas, dispersarse mediante esporas y tener un ciclo de vida en el que las fases esporofítica y gametofítica son independientes y de vida libre, siendo la fase esporofítica la fase dominante (Mendoza y Pérez, 2009; Moran, 2014).

Son muy diversos en formas y tamaños, pueden medir desde unos cuantos milímetros como los géneros *Azolla* y *Salvinia*, o hasta 20 metros como en el género *Cyathea* (Martínez y Ramos, 2014). Son perennes, no tienen crecimiento secundario en el tallo y pueden ser plantas herbáceas, arbustivas o arborescentes. De acuerdo a su forma de vida, pueden ser terrestres, epipétricas, epífitas, hemiepífitas, escandentes o trepadoras, acuáticas y subacuáticas (Tejero-Díez y Mickel, 2004; Muñiz *et al.*, 2005).

Se encuentran en casi todos los hábitats terrestres, excepto en algunas zonas áridas, la Antártida y algunas islas remotas. Su riqueza presenta un gradiente latitudinal pronunciado donde entre el 75 y el 85% de las especies se encuentra en los trópicos, una zona en América, que comprende el sureste de México, Las Antillas, Centroamérica y la región tropical de los Andes; y la otra en el Viejo Mundo, en el sureste de Asia y Malasia. La región tropical de África y las zonas templadas muestran una diversidad moderada, mientras que la menor riqueza se encuentra en climas secos y en las regiones árticas (Kreft *et al.*, 2010; Tejero-Díez *et al.*, 2014).

Además, presentan un patrón de diversidad a lo largo de un gradiente altitudinal, se pueden encontrar desde los manglares al nivel del mar, hasta en la vegetación alpina a más de 4,000 m de altitud (Bhattarai *et al.*, 2004; Acebey *et al.*, 2015). Sin embargo, las montañas tropicales son las que presentan mayor diversidad de helechos, a elevaciones intermedias entre 1,800-2,400 m, debido a la combinación entre alta humedad y temperaturas moderadas (Kessler, 2010; Tejero-Díez *et al.*, 2014).

En México, los bosques mesófilos de montaña son los que presentan mayor riqueza y diversidad de helechos y licofitas, seguidos por los bosques tropicales perennifolios y subperennifolios, los bosques de pino-encino, bosques de coníferas, bosques tropicales caducifolios, humedales, matorral xerófilo y pastizales (Tejero-Díez *et al.*, 2011; Tejero-Díez *et al.*, 2014; Acebey *et al.*, 2015).

Ciclo de vida

Presentan un ciclo de vida con alternancia de generaciones, cada una independiente y de vida libre: 1) la fase sexual o gametofítica, es haploide (n), generalmente pequeña, sin tejidos especializados y es la que produce los gametos; 2) la fase asexual o esporofítica, es diploide ($2n$), representa la fase dominante, es la fase que produce las esporas y está formada por raíz, tallo y hojas (Tejero-Díez y Mickel, 2004).

La mayoría de los helechos son homospóricos, es decir, producen un solo tipo de esporas como resultado de la meiosis, y cuando estas esporas germinan se desarrolla un gametofito bisexual. Solo dos grupos de helechos acuáticos (Marsileaceae y Salviniaceae) son heterospóricos, por lo que producen dos tipos de esporas, microsporas que se forman en los microsporangios y megasporas producidas en megasporangios, como resultado, el gametofito de estas plantas es unisexual, dado que las microsporas dan origen a gametofitos masculinos, mientras que las megasporas darán origen a los gametofitos femeninos (Evert y Eichhorn, 2013).

En un helecho leptosporangiado homospórico, las esporas se producen por meiosis en los esporangios, los cuales se encuentran agrupados en soros en el envés o en los márgenes de las hojas de un esporofito adulto. Eventualmente, las esporas son liberadas y se dispersan con la ayuda del viento o el agua. Una vez que se han establecido, germinan y desarrollan una plántula de apenas unos centímetros de tamaño. Estas plántulas llamadas prótalos, corresponden a la fase gametofítica, son fotosintéticas, presentan rizoides en la superficie ventral y pueden tener una sola capa de células de grosor, la mayoría tiene forma de corazón, algunos otros son gruesos con forma irregular (Evert y Eichhorn, 2013; Moran, 2014; Mauseth, 2014) (Figura 1).

En la parte ventral del prótalo o gametofito se encuentran los órganos sexuales o gametangios. En un gametofito bisexual se producen ambos tipos de gametangios; los masculinos o anteridios, encargados de producir los anterozoides y los gametangios femeninos o arquegonios que producen la ovocélula. Cuando han madurado los anterozoides multiflagelados nadan hasta el cuello del arquegonio y ocurre la fecundación de la ovocélula. El cigoto comienza a dividirse y el embrión crece y se diferencia en un esporofito adulto, es decir, una planta con raíz, tallo y hojas. Durante un tiempo el esporofito obtiene los nutrientes del gametofito, pero una vez que ha alcanzado el nivel de fotosíntesis suficiente para mantenerse por sí mismo, el gametofito muere. Entonces se forman hojas con soros, en donde los esporangios llevan a cabo la meiosis para producir las esporas y se repite el proceso (Evert y Eichhorn, 2013; Moran, 2014) (Figura 1).

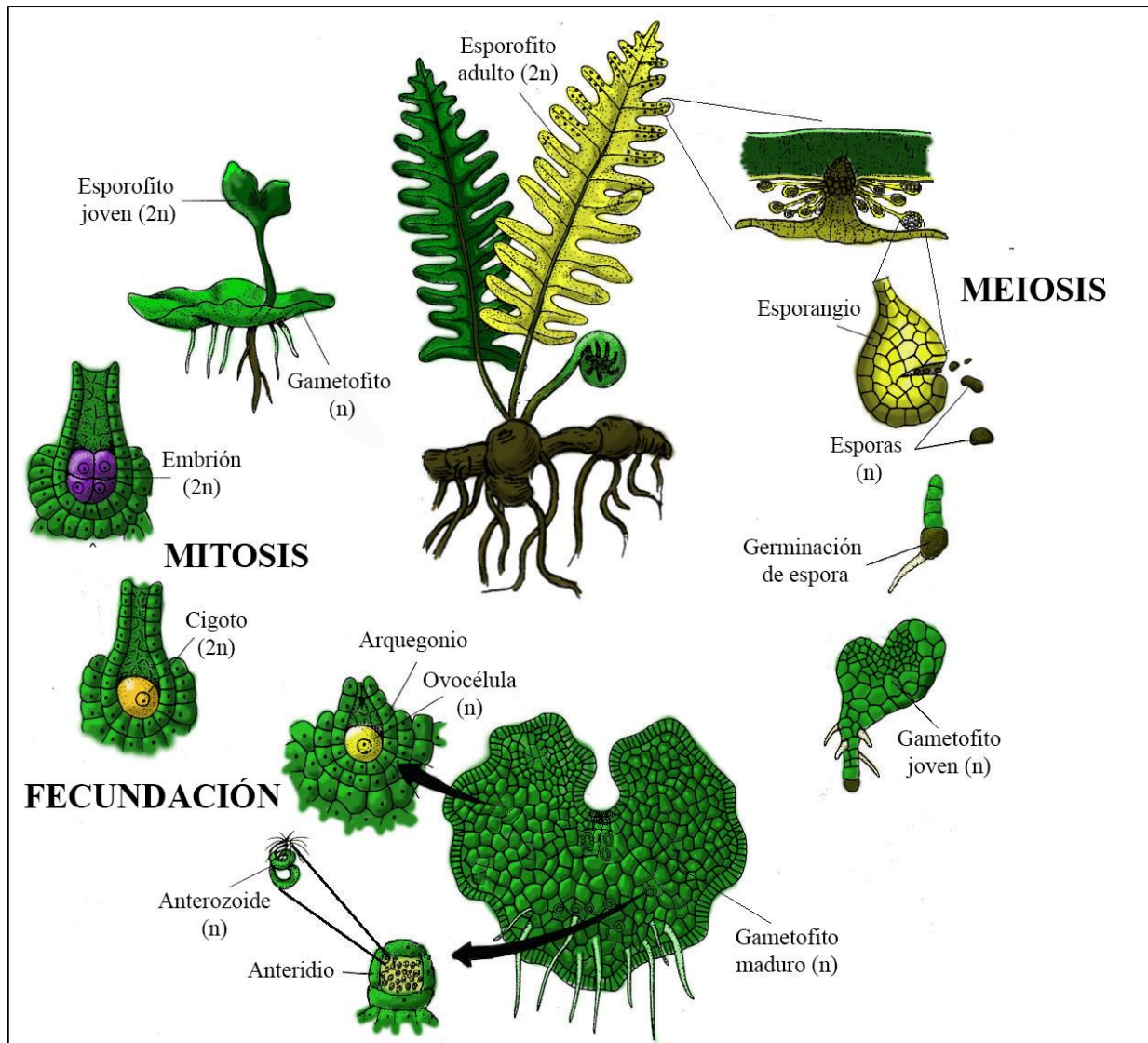


Figura 1. Ciclo de vida de un helecho leptosporangiado homospórico. (Tomado y modificado de Mauseth, 2014).

Morfología y anatomía de las hojas en los helechos

Las hojas de los helechos también se conocen como frondas, son megáfilas y representan la parte más conspicua del esporofito, su gran superficie permite capturar la luz del sol de manera más efectiva con respecto a las hojas micrófilas de las licofitas. Se originan a partir del meristemo apical del rizoma y el tipo de desarrollo que presentan se conoce como vernación circinada. Existe una gran diversidad de hojas en los helechos, la mayoría son monomórficas y tienen un solo tipo de hojas; sin embargo algunas especies presentan dimorfismo foliar, es decir, unas hojas son estériles y llevan a cabo la fotosíntesis, mientras otras son fértiles y se encargan de la producción de esporas. No obstante, todas las hojas están compuestas por un pecíolo y una lámina (Evert y Eichhorn, 2013; Mauseth, 2014).

Pecíolo: Su función es dar soporte, pero en algunos casos también es fotosintético. Puede ser lustroso, glabro, presentar escamas, pelos o espinas, ser acanalado, terete o alado, de color verde, pardo o púrpura. La mayoría presenta líneas de aireación o neumatóforos en la parte lateral del pecíolo que permiten la difusión del aire hacia el parénquima debajo de la línea (Lin y DeVol, 1977; Mendoza y Pérez, 2009; Vasco *et al.*, 2013).

La anatomía del pecíolo y raquis es similar a la del rizoma, consta de una epidermis que es la capa más externa y suele presentar pelos o escamas. El córtex y la médula constituidos por colénquima, esclerénquima y/o parénquima, en algunos casos también se presentan tejidos secretores (Ogura, 1972). De acuerdo con Lin y DeVol (1977) la distribución del esclerénquima resulta ser un carácter anatómico importante, debido a que puede encontrarse en el córtex, ya sea por debajo de la epidermis, agrupado en masas oscuras dispersas o rodeando los haces vasculares en forma de banda.

El sistema vascular está compuesto por uno o más haces vasculares, cada uno rodeado por el periciclo y la endodermis. El número, forma y arreglo de los haces vasculares no solo son variables entre las diferentes especies, sino también a lo largo del mismo pecíolo, además, la forma del xilema y su arreglo con respecto al floema son características importantes en la taxonomía de los helechos (Ogura, 1972; Lin y DeVol, 1977; Vasco *et al.*, 2013).

Debido a la diversidad que se presenta en el sistema vascular de los helechos, Ogura (1972) definió que existen helechos monostéllicos, en los cuales el pecíolo presenta un solo haz vascular que puede tener distintas formas: circular, elíptico, semicircular, en forma de “V”, “C” o “H”; helechos distéllicos (con dos haces vasculares), polistéllicos (con 3 o más haces vasculares) y hasta helechos con numerosos haces vasculares arreglados en círculos concéntricos, que se conocen como policíclicos.

Lámina: Puede ser simple o entera, estar dividida en pinnas o incluso subdividida en pínulas. Presenta un eje primario llamado raquis, el cual es una extensión del pecíolo, el eje principal de una pinna se llama costa, mientras que el de una pínula se llama cóstula. Los pelos y escamas pueden estar presentes o ausentes, ser muy abundantes y llegar a tener gran variedad de formas (Ogura, 1972; Wagner y Smith, 1993; Vasco *et al.*, 2013; Evert y Eichhorn, 2013).

Anatómicamente, la mayoría de las hojas maduras son bifaciales y presentan superficies abaxial y adaxial bien definidas. La epidermis puede contener algunos cloroplastos y cristales de oxalato de calcio, las células epidérmicas abaxiales suelen ser más elongadas que las adaxiales, generalmente los estomas se localizan únicamente en la superficie abaxial, sin embargo, en algunos casos se encuentran en la superficie adaxial o en ambas superficies. El mesófilo se diferencia en un tejido empalizada adaxial y tejido

esponjoso abaxial, pero algunos helechos únicamente presentan un mesófilo esponjoso, mientras que otros carecen de él (Ogura, 1972; Vasco *et al.*, 2013).

Soros: Son las estructuras reproductoras de los helechos y se encuentran en el envés de la lámina o en los márgenes de ésta, incluso en hojas modificadas. Están formados por un conjunto de esporangios y pueden tener distintas formas, como son: lineares, redondeados, elípticos o arriñonados y ser de color amarillo, anaranjado, pardo o negro. En algunos géneros los soros están cubiertos por una membrana derivada de la epidermis de la lámina, llamada indusio (Evert y Eichhorn, 2013).

Esporangios: Contienen a las esporas, dependiendo de su estructura, origen y desarrollo pueden ser eusporangios o leptosporangios, lo cual es de gran importancia para clasificar a los helechos. La mayoría de los helechos presenta leptosporangios, es decir, los esporangios se originan a partir de una sola célula de la superficie, que se divide periclinalmente para producir una célula interna y una externa. La célula externa es la que dará origen al esporangio, dividiéndose varias veces para formar el pie, la cápsula y el anillo del esporangio. La pared madura de la cápsula consiste en una sola capa de células, además, el número de esporas que se produce es pequeño y múltiplo de 4, comúnmente 64 (Evert y Eichhorn, 2013; Mauseth, 2014; Moran, 2014).

Los helechos eusporangiados son aquellos cuyos esporangios se originan por divisiones periclinales de varias células en la superficie de la hoja, dando como resultado una capa interna de células y una externa. La capa interna prolifera en el tejido esporógeno, el cual dará origen a las células que se convertirán en esporas; mientras que la capa externa se desarrolla en la pared del esporangio, y que tendrá varias células de grosor. Este tipo de esporangio es más grande, masivo y produce cientos o miles de esporas en comparación con los leptosporangios (Mauseth, 2014; Moran, 2014).

Esporas: La mayoría de los géneros presentan esporas que van de 20 a 50 μm de longitud. Dependiendo de la manera en que se divide el esporocito durante la meiosis, las esporas pueden ser triletes o monoletes. Las esporas triletes son tetraédricas con la cara distal hemisférica o esferoidal, tienen simetría radial y una apertura con forma de “Y”. Se consideran como el tipo más antiguo ya que aparecen temprano en el registro fósil, además, están presentes en las familias de helechos menos derivadas. En cambio, las esporas monoletes tienen forma elipsoidal, presentan simetría bilateral, tienen una cicatriz pequeña en su lado cóncavo y son el tipo de spora más abundante (Tryon y Lugardon, 1991; Moran, 2014).

Presentan dos capas protectoras, la capa interna o exosporio y la capa externa o perisporio. Esta capa externa puede ser muy elaborada en algunos helechos, estar ornamentada con pliegues, verrugas, espinas, tener alas o estar perforada. Pueden ser de diferentes colores, la mayoría son marrones o negras, pero algunas son verdes o amarillas. El tipo de espora, su ornamentación y color son específicos para cada especie de helecho y resultan importantes para su identificación y clasificación (Moran, 2014).

Filogenia y clasificación de los helechos

Actualmente, los helechos se consideran un grupo monofilético, que junto con *Psilotum* y *Equisetum* conforman el clado Monilofita (Figura 2), este nombre proviene del latín *moniliformis* que significa cuentas de collar y hace referencia a la presencia del xilema mesarco en el tallo, con el protoxilema restringido a lóbulos en el centro del xilema, semejando un collar (Pryer *et al.*, 2004).

Con base en la filogenia del linaje de las plantas vasculares o Traqueofitas, las Monilofita son el grupo hermano del clado Lignofita, el cual se caracteriza por el desarrollo de madera a partir del cámbium vascular, e incluye al clado de las Espermatofitas, las cuales se distinguen por la presencia de semillas, y circunscribe a las angiospermas y gimnospermas (Pryer *et al.*, 2004; Simpson, 2010; Mauseth, 2014) (Figura 2).

Juntos, Monilofita y Lignofita, forman el clado Eufilofita, caracterizado por tener hojas megáfilas asociadas a una laguna foliar y esporangios terminales. El grupo hermano de Eufilofita es Licofita, cuya característica principal es la presencia de hojas micrófilas y es donde se encuentran los géneros *Selaginella*, *Lycopodium* e *Isoetes* (Pryer *et al.*, 2004; Simpson, 2010; Mauseth, 2014) (Figura 2).

Las clasificaciones más recientes de las pteridofitas propuestas por Smith *et al.* (2006), Christenhusz *et al.* (2011) Ruggiero *et al.* (2015) y el PPG I (2016) sugieren dos clases con 14 órdenes, 51 familias y 337 géneros. La clase Lycopodiopsida (licofitas) que comprende tres órdenes (Lycopodiales, Isoetales y Selaginellales), con tres familias, 18 géneros y aproximadamente 1,338 especies; y la clase Polypodiopsida donde se reconocen cuatro subclases (Equisetidae, Ophioglossidae, Marattiidae y Polypodiidae), con 11 órdenes, 48 familias, 319 géneros y aproximadamente 10,578 especies. Sin embargo, autores como Kessler (2010), Mehlreter (2010) y Acebey *et al.* (2015) proponen que la diversidad de pteridofitas a nivel mundial puede llegar a 15,000 especies.

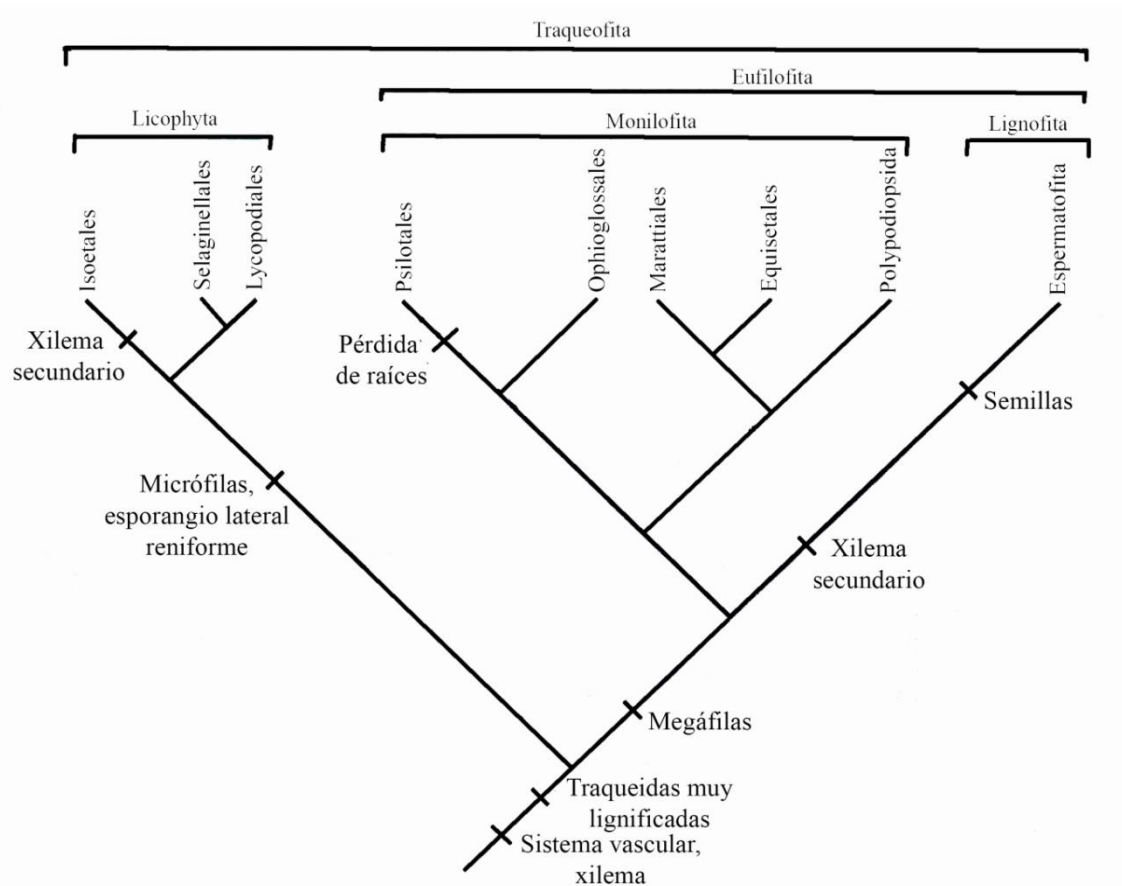


Figura 2. Filogenia propuesta para las plantas vasculares o Traqueofita.

En México se tienen registradas 1,030 especies de helechos y licofitas, incluyendo nuevas especies y nuevos registros. Se encuentran distribuidos en aproximadamente 132 géneros y representan alrededor del 4.4% de la flora vascular del país, calculada en 23,424 especies (Mickel y Smith, 2004; Tejero-Díez *et al.*, 2014; Villaseñor, 2004).

Los estados de la República Mexicana con mayor diversidad de pteridofitas, son Oaxaca, Chiapas, Veracruz, Guerrero, Puebla e Hidalgo (Pérez *et al.*, 2013). Este último, cuenta con alrededor de 140 especies, distribuidas en 50 géneros y 21 familias. Las familias presentes en Hidalgo con mayor número de especies son: Pteridaceae (69 spp), Dryopteridaceae (40), Polypodiaceae (33), Thelypteridaceae (15), Aspleniaceae (14) y Athyriaceae (11) (Ramírez y Sánchez, 2007).

Filogenia y clasificación de la familia Dryopteridaceae

Dryopteridaceae es una familia monofilética circunscrita en el clado de los Eupolypodios I, junto con familias como Davalliaceae, Lomariopsidaceae, Oleandraceae, Polypodiaceae y Tectariaceae. Este clado se caracteriza por tener de 3 a 10 haces vasculares en la base del pecíolo, con excepción de helechos de talla pequeña que tienen uno o dos haces vasculares, generalmente los dos haces adaxiales son de mayor tamaño y en algunos casos las bandas de xilema presentan un gancho (Schneider *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2006; Schuettpelz y Pryer, 2007; Liu *et al.*, 2007; Moran, 2014) (Figura 3).

Las clasificaciones recientes de Smith *et al.* (2006, 2008), Christenhusz *et al.* (2011) y el PPG I (2016), basadas en estudios moleculares y morfológicos, ubican a la familia Dryopteridaceae dentro de la clase Polypodiopsida, subclase Polypodiidae, orden Polypodiales.

Smith *et al.* (2006, 2008) reconocía alrededor de 1,700 especies, distribuidas entre 40 y 45 géneros; sin embargo, Zhang *et al.* (2013) y el PPG I (2016) estiman que existen alrededor de 2,115 especies y 26 géneros. El 80% de las especies se encuentra distribuidas en solo cuatro géneros: *Elaphoglossum* (600 spp.), *Polystichum* (500), *Dryopteris* (400) y *Ctenitis* (125).

Dentro de la familia numerosos estudios filogenéticos basados en datos morfológicos y secuencias de marcadores de ADN del cloroplasto, como *rbcL*, *atpA*, *atpB*, *rps4-trnS*, *trnG-trnR*, *trnL-trnF*, reconocen cinco clados: I) helechos dryopteridoides, II) helechos polybotryoides, III) helechos lastreópsidos, IV) helechos bolbitidoides, y V) el género *Stigmatopteris* (Liu *et al.*, 2007, 2015; Schuettpelz y Pryer, 2007; Moran *et al.*, 2010; Labiak *et al.*, 2014; Moran y Labiak 2015, 2016; Le Péchon *et al.*, 2016).

Christenhusz *et al.* (2011) y Zhang *et al.* (2013) consideraban dos subfamilias, Elaphoglossoideae y Dryopteridoideae. Sin embargo, las propuestas más recientes de Liu *et al.* (2015) y el PPG I (2016) reconocen tres subfamilias monofiléticas (Figura 4), que son:

1) **Polybotryoidae**: Constituida por aproximadamente 98 especies en siete géneros: *Cyclodium*, *Maxonia*, *Olfersia*, *Polybotrya*, *Polystichopsis*, *Stigmatopteris* y *Trichoneuron*. Tienen rizomas cortos o largamente rastreros a trepadores, hojas dimórficas o monomórficas, simples a 4-pinnadas, soros redondeados o acrosticoides (Schuettpelz y Pryer, 2007; Liu *et al.*, 2015; Moran y Labiak, 2015, 2016; PPG I, 2016).

2) **Elaphoglossoideae**: Con alrededor de 883 especies en 11 géneros: *Arthrobotrya*, *Bolbitis*, *Elaphoglossum*, *Lastreopsis*, *Lomagramma*, *Megalastrum*, *Mickelia*, *Parapolystichum*, *Pleocnemia*, *Rumohra* y *Teratophyllum*. Se caracterizan por tener rizomas rastreros, algunos presentan un haz vascular ventral elongado, hojas dimórficas o monomórficas, generalmente muy divididas, soros redondeados o acrosticoides, algunos con glándulas amarillentas en la lámina (Schuettpelz y Pryer, 2007; Moran *et al.*, 2010; Labiak *et al.*, 2014; PPG I, 2016).

3) **Dryopteridoideae**: Conformada por el clado de los helechos dryopteridoides. Con aproximadamente 1,128 especies en seis géneros: *Arachniodes*, *Ctenitis*, *Cyrtomium*, *Dryopteris*, *Phanerophlebia* y *Polystichum*. Son terrestres, tienen rizomas erectos, hojas monomórficas y soros redondeados (Little y Barrington, 2003; Liu *et al.*, 2007; Lu *et al.*, 2007; Schuettelpelz y Pryer, 2007; Sessa *et al.*, 2012; Moran, 2014; Le Péchon *et al.*, 2016, PPG I, 2016).

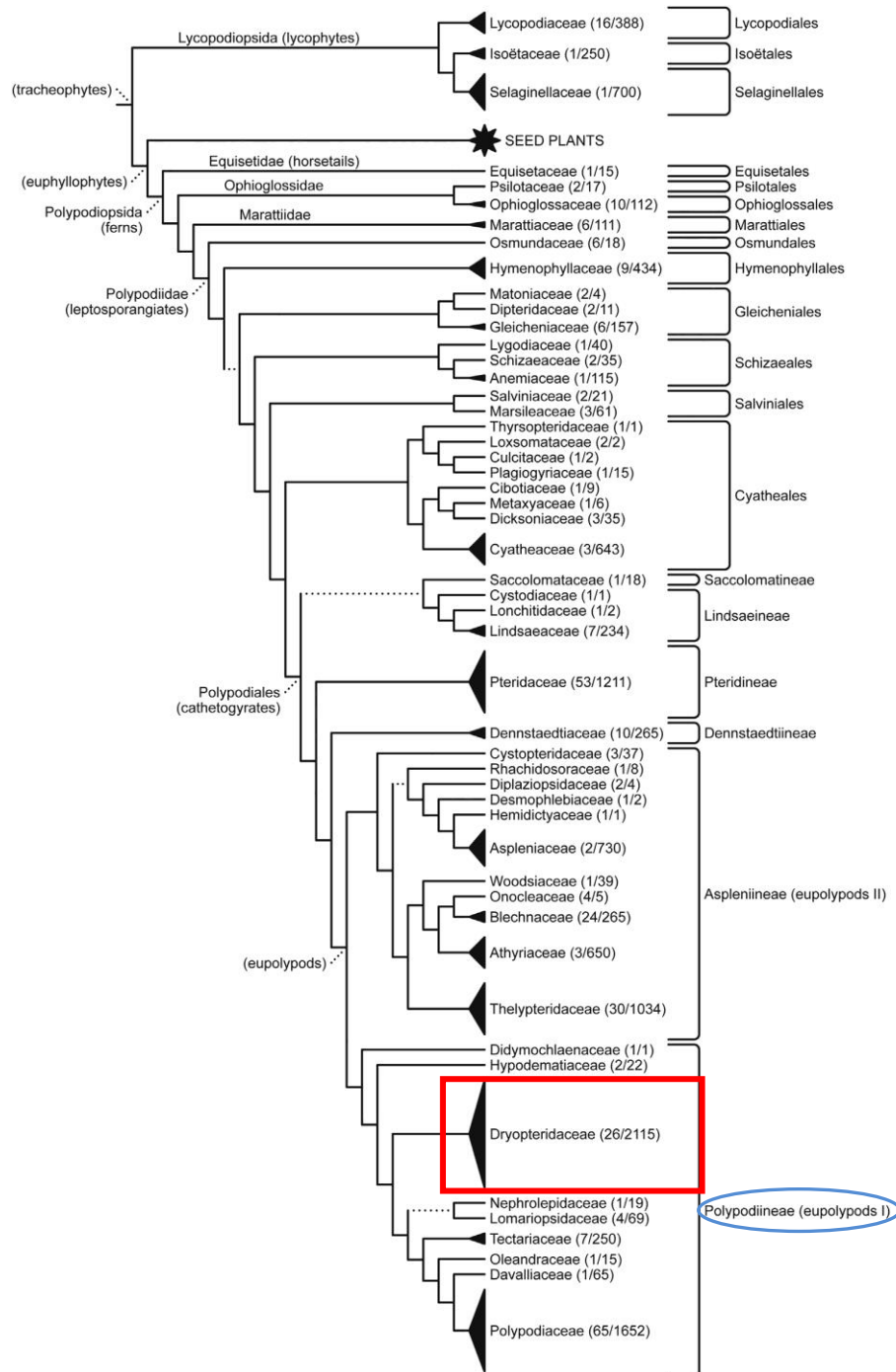


Figura 3. Filogenia de las Traqueofita propuesta por el PPG I (2016) para la clasificación de los helechos. La familia Dryopteridaceae se encuentra circunscrita en el clado de los Eupolipodios I.

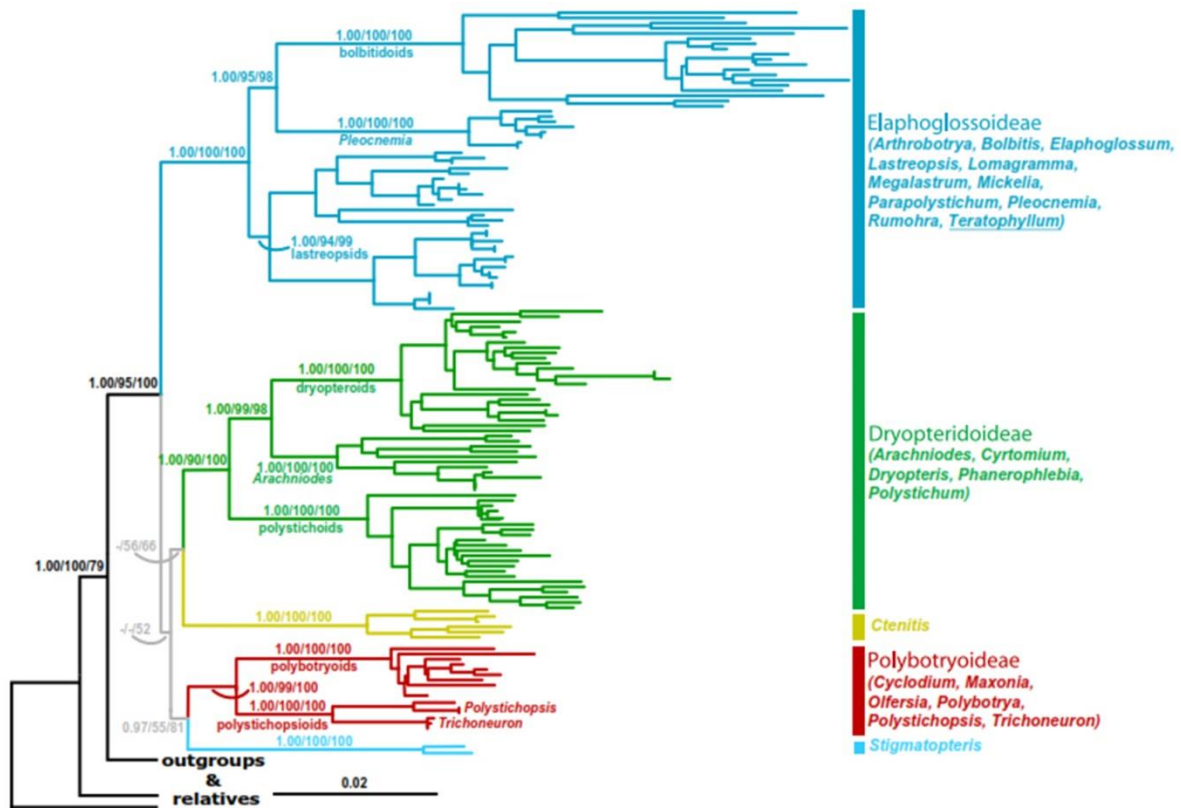


Figura 4. Filogenia de la familia Dryopteridaceae basada en los datos de tres marcadores de DNA del cloroplasto, *atpA*, *atpB* y *rbcL*. Se aprecian las subfamilias monofiléticas propuestas para la clasificación dentro de la familia: Elaphoglossoideae, Dryopteridoideae y Polybotryoideae, así como los géneros circunscritos en cada subfamilia. Imagen tomada de Liu *et al.* (2015).

Características de la familia Dryopteridaceae

Dryopteridaceae es una de las familias más diversas de helechos leptosporangiados, sus miembros usualmente son terrestres y de talla media, aunque también los hay epipétricos, hemiepífitos o epífitos. Presentan rizomas dictiostélicos, escamosos, rastreros, trepadores, ascendentes o erectos; hojas no articuladas, monomórficas o dimórficas; pecíolos escamosos, con numerosos haces vasculares, redondeados, arreglados en forma de anillo; láminas usualmente oblongas, deltoides, pentagonales, lanceoladas, ovadas o lineares, simples a 5-pinnadas, raquis y costas sulcados adaxialmente, los surcos decurrentes; venas pinnadas o bifurcadas, libres o anastomosadas; soros redondos con o sin indusio, acrosticoide en algunos taxa; indusio redondo-reniforme o peltado, pie del esporangio con 3 hileras; esporas reniformes, monoletes, perisporio alado; $x=41$ (Smith *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2013).

La distribución de la familia es cosmopolita, la mayoría de sus especies se encuentran en los trópicos, pero tiene representantes en las regiones templadas. En México esta familia está ampliamente representada por un gran número de especies que se encuentran en altitudes que

van de los 50- 2,900 m, la mayoría de las especies se concentran en el sureste, principalmente en los estados de Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Puebla e Hidalgo, este último cuenta con siete géneros de la familia, que son: *Arachniodes*, *Ctenitis*, *Dryopteris*, *Elaphoglossum*, *Lastreopsis*, *Megalastrum* y *Polystichum* (Mickel y Smith, 2004).

Muchas especies son de importancia ornamental, como son *Ctenitis pentangularis*, *Dryopteris villosa*, *Elaphoglossum longifolium*, *Polystichum acrostichoides* y *Rumohra adiantiformis*. Algunos helechos del género *Dryopteris* tienen importancia medicinal y alimenticia como son *Dryopteris filix-mas* que es utilizado como vermífugo, *D. crassirhizoma* que se usa en el tratamiento de úlceras, contusiones, quemaduras y torceduras, *D. fragans* cuyas hojas se utilizan como sustituto de té y *D. austriaca* que también se usa como alimento (Muñiz *et al.*, 2007; Simpson, 2010).

Descripción de las especies bajo estudio

***Arachniodes* Blume**

Es un género de helechos terrestres que contiene entre 50 y 60 especies, las cuales se distribuyen principalmente en las zonas tropicales y subtropicales del mundo; la mayor diversidad se encuentra en Asia y las Islas del Pacífico, para México, Centroamérica y Sudamérica se reconocen cuatro especies, la principal de ellas es *Arachniodes denticulata* (Smith, 1993; Hai *et al.*, 2013).

***Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching**

Terrestre; rizoma erecto o decumbente, escamas del rizoma pardas, lineares-lanceoladas; frondas agrupadas; pecíolo 12-32 cm de largo, 1/3-1/2 la longitud de la fronda, castaño, glabro, pero usualmente con escamas pardas, lineares en la base; lámina 12-30 cm de longitud, 8-26 cm de ancho, deltada a pentagonal, 3-5-pinnada, usualmente 4-pinnada en la base; pinnas alternas, 8-14 pares, pediculadas, el par basal alargado básicamente; segmentos oblanceolados, base cuneada, margen fuertemente dentado; raquis y costas glabros o con unos pocos tricomas esparcidos, rojizos, sin o raramente escamosos, los surcos adaxiales glabros por dentro; nervaduras conspicuas, glabras; soros redondeados; indusio, reniforme, glabro, persistente (Mickel y Beitel, 1988; Moran, 1995).

Es una especie con amplia distribución en América, presente desde México (Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Oaxaca, Puebla y Veracruz); Centro y Sudamérica, incluyendo Cuba y Jamaica. Se encuentra en bosques mesófilos de montaña, bosques de pino, bosques de pino-encino, en altitudes de 1,000 a 2,900 m (Mickel y Beitel, 1988; Mendoza *et al.*, 1999; Mickel y Smith, 2004).

***Dryopteris* Adans.**

Es un género morfológicamente muy diverso, la mayoría de las especies son terrestres, sin embargo, se conocen algunas especies epífitas. Incluye aproximadamente 400 especies, presentes en todos los continentes, con excepción de la Antártida, se distribuyen en regiones tropicales, templadas y boreales, pero presenta mayor riqueza de especies en los bosques templados (Moran, 1995; Sessa *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2013).

***Dryopteris wallichiana* (Sprengel) Hylander**

Terrestre; rizoma erecto, densamente escamoso, escamas concoloras, lanceoladas; frondas 45-135 cm de longitud; pecíolo (8-)15-30 cm de largo, usualmente $\frac{1}{4}$ (- $\frac{1}{3}$) o menos la longitud de la fronda, escamoso, escamas lineares, abundantes, pardo oscuras, márgenes ciliados o enteros; lámina (30-)50-100(120) cm de largo, (12-)18-28 cm de ancho, 1-pinnado-pinnatífida a 2-pinnada, oblonga-lanceolada; raquis densamente escamoso, escamas similares a las del pecíolo; pinnas 20-40 pares, alternas, cortamente pediculadas, lineares, las basales ligeramente reducidas, equiláteras; segmentos oblongos a cuadrados, márgenes enteros, ápice truncado, denticulado; costas y cóstulas con escamas lineares abaxiales; indusio orbicular-reniforme, pardo oscuro, glabro, contraído en la madurez (Moran, 1995; Mickel y Smith, 2004; Wu *et al.*, 2013).

Se distribuye ampliamente alrededor del mundo, desde México (Ciudad de México, Chihuahua, Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Querétaro, Tamaulipas, Veracruz); Centroamérica y Sudamérica hasta India, China, Japón, Taiwán, Filipinas y Hawái. Se localiza en bosques mesófilos de montaña, bosques caducifolios, bosques de pino-encino, en altitudes que van desde los 1,500-3,150 m (Moran, 1995; Mickel y Smith, 2004).

***Elaphoglossum* Schott ex J. Smith**

Es uno de los géneros más grandes y complejos de helechos, la mayoría difiere en la forma de la hoja, venación y hábito del rizoma, sin embargo, los caracteres con mayor importancia taxonómica son las escamas del rizoma y las frondas. Se reconocen más de 600 especies, cerca del 75% se encuentran en las zonas tropicales de América (Rouhan *et al.*, 2004; Skog *et al.*, 2004; Xing *et al.*, 2013).

***Elaphoglossum peltatum* (Sw.) Urb.**

Con base en el estudio morfológico de Mickel y Atehortúa (1980) y los estudios filogenéticos de Skog *et al.* (2004) y Rouhan *et al.* (2004) esta especie pertenece a la sección *Squamipedia*, la cual se caracteriza por tener frondas pequeñas (menos de 15cm de longitud), rizomas largamente rastreros, escamas pajizas y filopodios ausentes.

Epifito; rizoma rastrero; escamas del rizoma lanceoladas, pardo-amarillentas; frondas dimórficas, separadas; frondas estériles 3-15 X 2.5-5 cm; pecíolo $\frac{3}{4}$ la longitud de la fronda, verde a pajizo esparcidamente escamoso; lámina flabelada, indivisa o dividida dicotómicamente 6 veces,

segmentos lineares; las superficies con unas pocas escamas pequeñas, pardo-amarillentas; lámina fértil casi indivisa, generalmente 2-lobada (Mickel, 1995, Mickel y Smith, 2004).

Se distribuye en la región tropical de América, en México (Jalisco, Guerrero, Hidalgo, Veracruz, Puebla, Oaxaca y Chiapas), Centroamérica, norte de Sudamérica y las Antillas. Se encuentra en bosques mesófilos de montaña y selvas altas perennifolias, entre los 500 y 2,500 m (Mickel y Beitel, 1988; Mickel, 1995; Mickel y Smith, 2004).

***Polystichum* Roth.**

Uno de los géneros más grandes de la familia, son helechos terrestres, con alrededor de 500 especies que se distribuyen en las regiones templadas, subtropicales, áreas montañosas y alpinas del hemisferio Norte, principalmente en el Sur y Suroeste de Asia, Norteamérica, México, Centro y Sudamérica (Zhang y Barrington, 2013; Le Péchon *et al.*, 2016).

***Polystichum mickelii* A. R. Smith**

Terrestre; rizoma erecto; escamas del rizoma bicoloras, pardo claro con una línea media pardo oscuro, alargadas, margen eroso-dentado hacia la punta, mezcladas con escamas parecidas a pelos; frondas agrupadas, 60-110 cm de longitud; pecíolo de 17-50 cm de largo, cerca ½ la longitud de la fronda; base del pecíolo con escamas ovadas, erosas-denticuladas en los ápices, mezcladas con escamas parecidas a pelos, denticuladas, escamas grandes bicoloras pardo claro con una línea media pardo oscuro; hoja ovada-atenuada, coriácea, 30-60 cm de largo, 12-35 cm de ancho; raquis con escamas parecidas a pelos; pinnas pinnadas, de 25-30 pares; pínulas ± enteras con una aurícula acroscópica deltada, o en las pinnas más grandes un lóbulo libre, elíptico, en la base de las pínulas, que se vuelve fuertemente dentado distalmente, margen basiscópico entero a ligeramente dentado a crenulado o ligeramente lobado, con lóbulos fuertemente ascendentes; nervaduras libres; costas y cóstulas con escamas fibrilosas abaxiales, adaxialmente glabro; superficie abaxial de la hoja glabra, venas con escamas parecidas a pelos esparcidos; superficie adaxial y venas glabras; soros pequeños, sin indusio, no confluentes en la madurez (Mickel y Beitel, 1988; Barrington, 1995; Mickel y Smith, 2004).

Se localiza en selvas altas perennifolias y bosques húmedos de México (Veracruz, Oaxaca y Chiapas), Guatemala y Honduras, entre los (450-)700-2500 m (Mickel y Beitel, 1998; Mickel y Smith, 2004).

Antecedentes

Desde los primeros estudios descriptivos en el siglo XVII, que con ayuda del microscopio compuesto permitieron conocer la estructura de la célula vegetal, la anatomía vegetal ha tenido avances considerables convirtiéndose en una disciplina fundamental en estudios fisiológicos, sistemáticos y paleobotánicos (Rudall, 2007). Actualmente, con el surgimiento de la biología molecular, los datos anatómicos deben integrarse a los datos moleculares, morfológicos, palinológicos, citológicos, fisiológicos, químicos, entre otros, para permitir la construcción de una clasificación de las plantas más natural (Cutler *et al.*, 2007).

Los estudios anatómicos en helechos, especialmente aquellos relacionados con la anatomía del sistema vascular en el rizoma y el pecíolo, han sido de gran importancia para ayudar a dilucidar las relaciones entre los distintos grupos y proponer un sistema para su clasificación. Sobresalen las publicaciones de Bower (1923-1928), quien realizó un tratado comparativo entre un gran número de helechos tanto eusporangiados como leptosporangiados, en el que incluía información sobre la morfología y anatomía del sistema vascular del rizoma y el pecíolo, así como datos sobre el desarrollo de las estructuras reproductoras y del gametofito. Ogura (1972) abordó la anatomía comparada del rizoma, la raíz y la hoja de distintos helechos y licofitas, haciendo énfasis en la forma del sistema vascular y el tipo de estele presente en el pecíolo.

White (1974) señaló que hasta esa época la mayoría de los estudios anatómicos comparativos se habían centrado en la descripción de los órganos vegetativos, principalmente en la organización del meristemo del vástago, los patrones del tejido vascular y la ontogenia de los estomas, no obstante sugirió la importancia de realizar estudios comparativos más amplios y profundos que pudieran ser aplicados en la sistemática de los helechos. Lin y DeVol (1977, 1978) resaltaron la importancia del pecíolo en la taxonomía de helechos y describieron una serie de caracteres anatómicos y morfológicos del mismo, que aun resultan de gran utilidad en la sistemática de los helechos, debido a que delimitan familias y géneros, como son: el número de haces vasculares, su arreglo y la configuración de las bandas de xilema en cada haz vascular, así como la distribución del esclerénquima y la presencia o ausencia de surcos, estructuras de aireación e indumento.

Dentro de los helechos eusporangiados, se ha descrito la anatomía del rizoma y fronda de géneros como: *Archangiopteris* (Mengascini, 2002), *Danaea* (Rolleri, 2004), *Marattia* (Rolleri *et al.*, 2001; Lavalle, 2007), así como la anatomía del pecíolo y la epidermis de las distintas partes de la hoja de *Angiopteris evecta* (Srivastava, 2008).

En los helechos leptosporangiados se han realizado estudios anatómicos de las familias: Aspleniaceae (Mitsuta *et al.*, 1980; Umikalsom, 1992; Ferrari, 2009), Athyriaceae (Umikalsom, 1992), Polypodiaceae (Zlotnik, 1991; Ferrari, 2009), Pteridaceae (Gracano *et al.*, 2001), y Thelypteridaceae (Mazumdar, 2013).

Los géneros que cuentan con estudios morfológicos y/o anatómicos del esporofito o de la fronda, se encuentran: *Adiantum* (Resmi *et al.*, 2016), *Anemia* (Ribeiro *et al.*, 2007), *Asplenium* (Khare y Shankar, 1989; Chaerle y Viane, 2004), *Blechnum* (Rolleri *et al.*, 2008, 2012a, 2012b), *Cheilanthes* (Herrera, 1993; Hernández *et al.*, 2008), *Cystodium* (Sen y Mitra, 1966), *Dryopteris* (Hernández *et al.*, 2006), *Elaphoglossum* (Bell, 1951; Guantay y Hernández, 1995; Feio *et al.*, 2013), *Oleandra* (Amoroso y Pava, 1991), *Polybotrya* (Moran, 1987), *Polypodium* (Tejero-Díez, 2005; Tejero-Díez *et al.*, 2010), *Polystichum* (Roux y Van Wyk, 2000), *Tectaria* (Velásquez, 1983), *Thelypteris* (Zavaro *et al.*, 1995) y *Woodwardia* (Lucansky, 1981), la mayoría de estos estudios describe la anatomía del sistema vascular en el pecíolo, así como el mesófilo, la epidermis e indumento de la lámina.

Mientras que las especies en las que se han hecho estudios anatómicos del esporofito son: *Acrostichum aureum* (Lobo y Krishnakumar, 2014), *Adiantopsis chlorophylla* (Hernández y Rodríguez, 2010), *Blechnum cordatum* (Prada *et al.*, 2008), *Cheilanthes pilosa* (Hernández *et al.*, 2011a), *Ctenitis melanosticta* (Hernández *et al.*, 2007, 2009), *Diplazium expansum* (Hernández *et al.*, 2009), *Doryopteris concolor* (Hernández *et al.*, 2010), *Doryopteris lorentzii* (Terán *et al.*, 2009), *Elaphoglossum balansae* (Rodríguez y Lavalle, 2011), *Elaphoglossum luridum* (Minardi *et al.*, 2014), *Llavea cordifolia* (Paniagua, 2005), *Pellaea ternifolia* (Albornoz y Hernández, 2005), *Pleopeltis minima* (Hernández *et al.*, 2012a), *Thelypteris palustris* (Bercu y Bercu, 2008) y *Trachypteris pinnata* (Hernández *et al.*, 2011b).

Estudios anatómicos en la familia Dryopteridaceae

Existen numerosos trabajos relacionados con la anatomía de los helechos en los que se han incluido algunas especies de la familia. Ogura (1972) y Lin y DeVol (1977, 1978) reconocieron que las especies de Dryopteridaceae presentan tres o más haces vasculares en el pecíolo, arreglados en forma de arco, con dos haces adaxiales de mayor tamaño y los menores entre ellos, además, la configuración del xilema en los haces mayores, es en forma de hipocampo, es decir, con los extremos curvados adaxialmente.

Hernández (2007) y Hernández *et al.* (2012b) describen la anatomía del pecíolo de varias especies de helechos, entre ellas algunas de Dryopteridaceae, enfocándose en el origen y la composición de la banda circumendodermal que rodea a los haces vasculares, y proponen que su presencia es una característica importante para la sistemática de los helechos, principalmente para las familias del clado de los Eupolypodios, entre ellas Dryopteridaceae.

También es posible encontrar estudios más específicos que describen algún aspecto anatómico o fisiológico de una especie en particular, por ejemplo el estudio de Nasrulhaq y Duckett (1991) que detalla la anatomía de la lámina de *Terathophyllum rotundifoliatum* y reporta dimorfismo en los cloroplastos presentes en las células epidérmicas. El estudio de Zhang y He (2009), donde describen la anatomía de la epidermis de la hoja de *Polystichum weimingii*, como herramienta

para diferenciarlo de *P. discretum*. O el de Minardi *et al.* (2014) quienes describen la anatomía de la fronda de *Elaphoglossum luridum* y su respuesta ante el estrés hídrico.

También se encuentran trabajos que describen la anatomía y/o morfología del esporofito de especies como: *Ctenitis melanosticta* (Hernández *et al.*, 2007) y *Elaphoglossum balansae* (Rodríguez y Lavalle, 2011). Así como de varias especies de los géneros: *Dryopteris* (Hernández *et al.*, 2006), *Elaphoglossum* (Guantay y Hernández, 1995; Feio *et al.*, 2013), *Phanerophlebia* (Yatskevych, 1996) y *Polybotrya* (Moran, 1987). Además, hay un estudio que describe la epidermis y el indumento de varias especies del género *Elaphoglossum* (Lavalle y Rodríguez, 2010).

Los estudios comparativos entre especies de distinto género son escasos, destacándose el estudio en el que se describe la anatomía foliar de algunas especies africanas de *Polystichum* y se compara con especies de *Arachniodes*, *Cyrtomium* y *Dryopteris* (Roux y Van Wyk, 2000).

Justificación

La familia Dryopteridaceae es una de las familias de helechos más diversas, se considera una familia monofilética muy bien sustentada por los datos moleculares, sin embargo, no se han logrado identificar y definir exitosamente las sinapomorfias morfo-anatómicas de la familia debido a que la información anatómica disponible es escasa y solo se limita a géneros como *Dryopteris*, *Ctenitis* o *Elaphoglossum*.

Por ello, la presente tesis es un estudio comparativo de la anatomía foliar de cuatro especies de distinto género (*Arachniodes denticulata*, *Elaphoglossum peltatum*, *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii*) del estado de Hidalgo, con la intención de aportar información anatómica y morfológica de la familia que pueda ayudar a la descripción de la misma. Así mismo, *Elaphoglossum peltatum*, *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii* se encuentran dentro de los géneros con mayor número de especies de la familia, por lo que se espera contribuir al conocimiento anatómico de estos géneros.

Adicionalmente, al trabajo morfo-anatómico de esta tesis se incluye un pequeño análisis filogenético de las especies aquí tratadas, con el que se pretende robustecer la información morfológica y anatómica presentada en esta tesis.

Objetivo general

Analizar y describir morfo-anatómicamente la hoja y los soros de las especies *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching, *Elaphoglossum peltatum* (Sw.) Urb., *Dryopteris wallichiana* (Sprengel) Hylander y *Polystichum mickelii* A. R. Sm., del estado de Hidalgo.

Objetivos particulares

- Describir los patrones vasculares del pecíolo y el raquis.
- Describir la anatomía de la lámina.
- Analizar el patrón de distribución de los estomas, obtener la densidad estomática y definir los tipos de estomas e indumento que se presentan en cada especie.
- Describir la morfología del soro y la ornamentación del perisporio de las esporas.
- Identificar los caracteres anatómicos que se presentan a nivel de familia y reconocer las características anatómicas que contribuyan a definir anatómicamente a las subfamilias.
- Realizar la comparación anatómica de las cuatro especies con la filogenia obtenida por análisis molecular.

Metodología

La metodología empleada en esta tesis puede ser dividida en: a) trabajo de campo, para el cual se realizaron tres visitas a las localidades previamente seleccionadas del estado de Hidalgo, con el fin de obtener ejemplares de herbario, ejemplares fijados, ejemplares frescos y esporas; y b) trabajo de laboratorio, en donde se realizó el procesamiento del material biológico obtenido en campo para su identificación, obtención de preparaciones y fotografías necesarias para la descripción anatómica y morfológica de cada una de las especies, así como la extracción del ADN para la realización del análisis molecular.

Trabajo de campo

De acuerdo a las técnicas de colecta de helechos, se eligieron hojas adultas con soros, con ayuda de una navaja se cortó el pecíolo, tan abajo y pegado al rizoma cómo fue posible. En cada visita se colectaron aproximadamente cinco muestras por especie. Algunas de estas hojas fueron prensadas inmediatamente con el propósito de servir como ejemplares de respaldo.

El resto de las hojas colectadas fueron destinadas para la obtención de material fresco y material fijado.

Las hojas destinadas como material biológico fresco, se pusieron dentro de bolsas de plástico con un poco de agua, se cerraron perfectamente, se etiquetaron y se almacenaron en un lugar fresco para que se conservaran en buen estado.

De las hojas que serían fijadas, se cortaron los pecíolos en fragmentos de aproximadamente 1 cm, separándolos en parte basal, media y base de la lámina, a las láminas se le cortaron las pinnas fértiles; todas las muestras, incluyendo el raquis se almacenaron por separado en frascos con FAA (formaldehído, ácido acético glacial y alcohol etílico) y se etiquetaron perfectamente.

Además, algunas pinnas fértiles se reservaron para obtener esporas, para lo cual se cortaron pinnas de las hojas y se guardaron en sobres de papel, perfectamente sellados de las orillas con cinta adhesiva para evitar que las esporas se salieran, los sobres se almacenaron junto con los ejemplares prensados.

Trabajo de laboratorio

Con el material colectado en campo se realizaron diversas técnicas para la obtención de datos. Se realizó cada procedimiento con cada una de las especies y pueden ser enlistados de la siguiente manera:

Identificación y montaje de ejemplares

Con el propósito de tener ejemplares de respaldo, los ejemplares prensados en campo se pusieron en la secadora por aproximadamente dos semanas, posteriormente se identificaron con la ayuda de claves dicotómicas, se montaron y etiquetaron de acuerdo a las técnicas de herbario.

Medición de ejemplares y construcción de dendograma

Con el fin de reportar el tamaño y la forma de las hojas se midieron las hojas de 10 ejemplares herborizados de cada especie. Las características que se tomaron en cuenta se enumeran a continuación, además, con los datos obtenidos se calculó el rango y los promedios para cada carácter.

- | | |
|---|-----------------------------------|
| 1) Largo de la hoja | 8) Ancho de la lámina en el ápice |
| 2) Largo del pecíolo | 9) Largo de las pinnas basales |
| 3) Diámetro del pecíolo | 10) Largo de las pinnas medias |
| 4) Largo de la lámina | 11) Largo de las pinnas apicales |
| 5) Número de pinnas | 12) Ancho de las pinnas basales |
| 6) Ancho de la lámina en la base | 13) Ancho de las pinnas medias |
| 7) Ancho de la lámina en la parte media | 14) Ancho de las pinnas apicales |

Con las medidas obtenidas y que se enlistan arriba, se construyó una matriz básica de datos y se analizó con el software de computadora NTSYSpc versión 2.21h y mediante distancia euclidiana se obtuvo un dendograma en donde se reflejó el grado de similitud del tamaño y forma de la hoja de las cuatro especies.

Preparaciones temporales de derivados epidérmicos

Para describir los derivados epidérmicos a lo largo del pecíolo y lámina, se realizaron preparaciones temporales del indumento del pecíolo, raquis y lámina. Con ayuda de una navaja se desprendía el indumento de las hojas frescas y se colocaba sobre el portaobjetos junto con una gota de agua, posteriormente se montaban con jalea glicerizada y se colocaba el cubreobjetos. La observación de las preparaciones y obtención de las fotografías se realizó con la ayuda de un microscopio estereoscópico Leica EZ4 HD con cámara y posteriormente se realizaron las descripciones correspondientes.

Cortes frescos de pecíolo y raquis

Las bolsas con hojas frescas, se conservaron dentro del refrigerador hasta el momento de su tratamiento. Para ello, se realizaron cortes a mano del pecíolo y raquis, a diferentes niveles como: base y parte media del pecíolo, base de la lámina, raquis y parte superior del raquis. Los cortes se observaron bajo el microscopio estereoscópico Leica EZ4 HD con cámara, se obtuvieron las fotografías y describieron los patrones vasculares en el pecíolo y raquis.

Con el fin de evitar desperdiciar material, los restos de pecíolo y raquis, se cortaron en fragmentos pequeños (1 cm) y se fijaron en FAA como material de reserva.

Desprendimiento de cutícula

Con la finalidad de describir los patrones epidérmicos y los tipos de estomas presentes en la lámina, se obtuvieron réplicas de la epidermis de la lámina, mediante el desprendimiento de la cutícula. Para ello, se colocó una capa delgada de esmalte para uñas transparente en la superficie abaxial o adaxial de pinnas preferentemente frescas, una vez seca se desprendió con ayuda de cinta adhesiva y se colocó sobre un portaobjetos para su observación y obtención de las fotografías correspondientes bajo el microscopio fotónico Leica DM750 con cámara Leica ICC50 E.

A partir de las fotografías adquiridas fue posible medir el tamaño de las células epidérmicas, así como de las células oclusivas, mediante el manejo del software de computadora LAS EZ versión 3.4.0. (Leica Application Suite).

Las imágenes de los patrones epidérmicos se obtuvieron con el software Adobe Photoshop CS6 versión 13.0 x32, usando las fotografías obtenidas como plantilla y dibujando sobre ellas los contornos celulares.

Para el conteo estomático se calculó el área de las fotografías, usando como referencia la reglilla que aparece en cada una de ellas. Se calculó un área de 1 mm^2 y se contaron todos los estomas que estuvieran completamente dentro. Para el porcentaje de cada tipo de estomas, se contó cada tipo estomático dentro del área y se calculó el porcentaje con respecto al conteo total de estomas.

Técnica histológica

Las muestras fijadas de cada helecho (pecíolo y hoja con soro) se deshidrataron en alcohol etílico en las siguientes concentraciones (30, 50, 70, 85, 96 y 100%) por un tiempo de 48 hrs en cada alcohol. Los cambios de xilol-etanol, xilol-parafina 2:1, xilol-parafina 1:1, xilol-parafina 1:2 y parafina se realizaron cada 12 hrs, se mantuvieron en parafina por dos semanas y se incluyeron. Los bloques de parafina fueron cortados transversalmente para obtener cortes histológicos de $7 \mu\text{m}$ de grosor con un micrótopo rotatorio Leica RM2165, Los cortes se desparafinaron por aproximadamente 30 min, se tiñeron con la tinción doble de safranina-verde rápido, y fueron montados en resina sintética. Una vez que la resina estuvo seca, las preparaciones se limpiaron y observaron bajo el microscopio fotónico Leica DM750 con cámara Leica ICC50 E, se obtuvieron las fotografías correspondientes y se realizó la descripción de la anatomía del pecíolo, raquis o lámina.

Aclarado de lámina con soro

Algunos fragmentos de las pinnas fijadas se colocaron en una solución de NaOH al 5% hasta que se tornaron pardas, después se mantuvieron en una solución de NaClO al 50% hasta que estuvieran transparentes. Una vez transparentes, se deshidrataron con alcohol etílico en las siguientes concentraciones (30, 50, 70, 85 y 96%) y se tiñeron con verde rápido. Posteriormente, las muestras se deshidrataron con alcohol etílico a concentraciones de 96 y 100%, se les colocó unas gotas de la solución de xilol-etanol-aceite de clavo, luego xilol y por último se montaron en resina sintética.

Al secar la resina, las preparaciones se limpiaron y se observaron en el microscopio fotónico Leica DM750 con cámara Leica ICC50 E, se tomaron las fotografías correspondientes y se describieron los patrones de venación, el soro y los esporangios.

Obtención de esporas

Al igual que los ejemplares prensados, los sobres obtenidos en campo se colocaron dentro de la secadora por dos semanas. El contenido de cada sobre se estrujó para fragmentar aún más el material y favorecer la liberación de las esporas, se tamizó el contenido con un tamiz de malla metálica con poros de 0.074 mm de diámetro, de esta manera se eliminaron los residuos de hojas, escamas, fragmentos de esporangios etcétera, las esporas que se obtuvieron se conservaron en frascos dentro del refrigerador.

Para medir el tamaño de las esporas se realizaron preparaciones en fresco, con un pincel se tomaron las esporas y se dejaron caer sobre una gota de agua en un portaobjetos, se colocó el cubreobjetos y se observaron bajo el microscopio fotónico Leica DM750 con cámara Leica ICC50 E se tomaron fotografías de varios campos y con ayuda del programa de computadora LAS EZ versión 3.4.0. (Leica Application Suite) se midió el largo y ancho de 30 esporas al azar.

Para describir la ornamentación de las esporas, se obtuvieron microfotografías mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Para ello, se montaron las esporas en los portamuestras para MEB, espolvoreando las esporas con un pincel de pocas cerdas sobre la cinta conductora. Se recubrieron utilizando la evaporadora de carbono y oro y se mantuvieron en un ambiente seco colocándolas en una cámara con gel de sílice. Las muestras se observaron en el Microscopio Electronico de Barrido Hitachi SU1510 y se obtuvieron las microfotografías, con las cuales fue posible realizar la descripción de su ornamentación.

Análisis molecular

Extracción, amplificación y secuenciación del ADN

La extracción del ADN se realizó mediante el método CTAB 2X (Tris 10 mM pH8.0; EDTA 20 mM, pH 8.0; CTAB 2; NaCl 1.4 M). En un mortero se colocaron fragmentos 3-4 g de la pinna fresca con 750 µl del amortiguador CTAB 2X y se disgregó el tejido hasta integrar completamente con la solución. La muestra se almacenó en un tubo eppendorf y se incubó en baño maría a 85°C por 1 hora, mezclando cada 15 minutos. Transcurrida la hora de incubación, se agregaron 1000 µl de cloroformo isoamílico, se agitó la mezcla y se centrifugó a 10,000 rpm durante 15 minutos a 4°C; la fase acuosa se transfirió a un tubo eppendorf nuevo, se le agregaron 500 µl de isopropanol frío y se refrigeró por una hora. Nuevamente, la muestra se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente, se descartó el sobrenadante. La pastilla se lavó con 1 ml de etanol al 70%, se centrifugó por 5 minutos y se dejó secar. Para evaluar la concentración del ADN genómico que se extrajo, se resuspendió la pastilla en 100 µl de agua y se procedió a cuantificar el ADN mediante un análisis de espectrofotometría, utilizando el espectrofotómetro para microplacas Epoch (BioTek).

La amplificación del ADN genómico se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para tres secuencias de ADN del genoma del cloroplasto, elegidas por su utilidad en estudios previos de la familia Dryopteridaceae: *rbcL*, *psbA-trnH* y *trnL-F* (Hasebe *et al.*, 1995; Geiger y Ranker, 2005; Liu *et al.*, 2007, 2015; Zhang y He, 2010; Sessa *et al.*, 2012; Le Péchon *et al.*, 2016). Cada región se amplificó en un volumen final de 25 µL que contenía 1× buffer, 0.8 mM dNTPs mix, 20 pmol de cada primer, 2 unidades de GoTaq DNA (Promega, USA) y 100 ng del ADN molde, en un termociclador Thermal Cycler PXE 0.2.

Los productos de la amplificación se evaluaron mediante electroforesis por 1 hr a 87 V/cm³ en un gel de agarosa 1.5%, con buffer TAE (Tris Acetate-EDTA), teñido con Gel red (Biotium, USA) y se observaron con un transiluminador UVP TMW-20 whithe light/UV. Los productos de la PCR se purificaron con el kit de purificación ExoSAP-IT (Ahymetrix, USA) y se secuenciaron usando Bigdye terminator v.3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystem) y el secuenciador automatizado Applied Biosystems 3730xl DNA analyzer (Applied BioSystems, USA).

Alineamiento de las secuencias y análisis filogenético

El análisis, edición y ensamble de las secuencias de ADN se realizó mediante el software BioEdit versión 7.2.6.1 (Hall, 1999). Se realizó una búsqueda para comparar las secuencias consenso de cada gen con aquellas depositadas en el GenBank usando la herramienta de búsqueda BLAST. Se obtuvieron secuencias de referencia del gen *psbA-trnH*, cuyos números de acceso se muestran en el Cuadro 1, para las especies *Elaphoglossum peltatum* y *Polystichum mickelii* no se encontraron secuencias de este gen, por lo que se eligieron las especies, *Elaphoglossum yoshinagae* y

Polystichum braunii. Como grupo externo se eligió a la especie *Asplenium monanthes*, con base en la filogenia y clasificación propuestas por Smith *et al.* (2006) y Schuettpelz y Pyer (2007).

El alineamiento de las secuencias se realizó con el software BioEdit versión 7.2.6.1, mientras que el árbol filogenético fue inferido mediante el Método Bayesiano con ayuda del software para computadora MrBayes versión 3.2., con parámetros estándar y 10,000,000 de repeticiones.

Cuadro 1. Números de acceso de GenBank correspondientes con las secuencias del gen *psbA-trnH* utilizadas en este estudio.

Especie	<i>psbA-trnH</i>
<i>Arachniodes denticulata</i>	JN189425
<i>Dryopteris wallichiana</i>	JN189388
<i>Elaphoglossum yoshinagae</i>	AB575802
<i>Polystichum braunii</i>	KX068891
<i>Asplenium monanthes</i>	JQ767647

Resultados

La identificación de los ejemplares colectados revela que se trata de las especies: *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana*, *Elaphoglossum peltatum* y *Polystichum mickelii* (Figura 5A-D). En el Cuadro 2 se mencionan algunos datos de colecta, así como las localidades donde se realizaron las colectas.

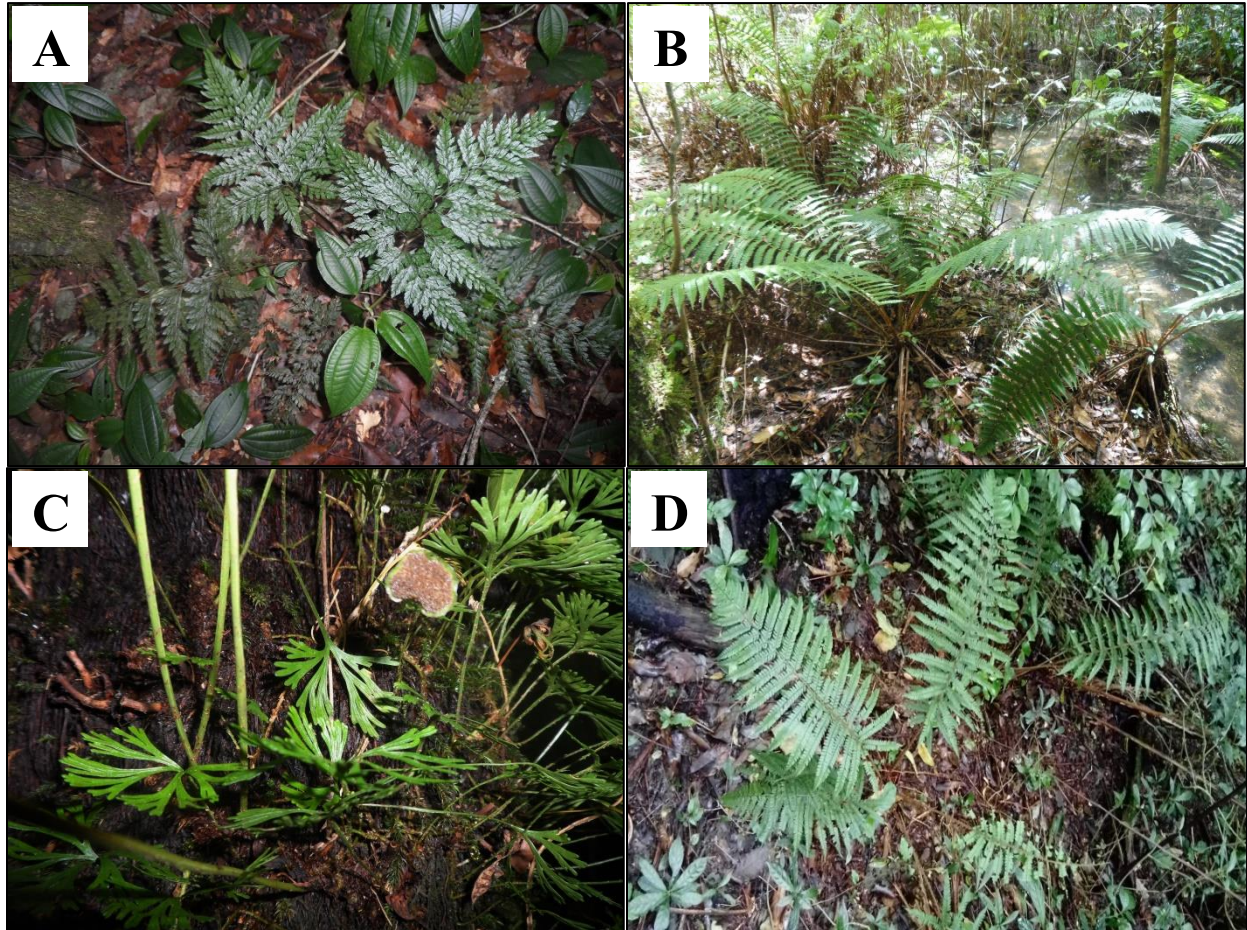


Figura 5. Especies en campo. A. *Arachniodes denticulata*. B. *Dryopteris wallichiana*. C. *Elaphoglossum peltatum*. D. *Polystichum mickelii*.

Cuadro 2. Datos de colecta de las especies estudiadas.

Especie	Hábitat	Habito de crecimiento	Localidad	Coordenadas/ Altitud	Fecha
<i>A. denticulata</i>	Terrestre	Herbáceo	La Virgen, municipio de Tlanchinol	20° 01'33.5'' N 98°37'57.0'' W 1,535 m	17-Nov-12
<i>A. denticulata</i>	Terrestre	Herbáceo	Reserva Tegolome, municipio de Tlanchinol	21° 01'17.8 " N 98° 38'44.3" W 1,542 m	14-Oct-16
<i>D. wallichiana</i>	Terrestre	Herbáceo	"La Cantera", municipio de Zacualtipan	20° 40'14.5" N 98°40'07.6" W 2,032 m	9-Oct-11
<i>D. wallichiana</i>	Terrestre	Herbáceo	"La Cantera", municipio de Zacualtipan	20° 40'20.2" N 98°40'09.7" W 2,071 m	15-Oct-16
<i>E. peltatum</i>	Epifito	Herbáceo	La Virgen, municipio de Tlanchinol	20° 01'33.5'' N 98°37'57.0'' W 1,535 m	17-nov-12
<i>E. peltatum</i>	Epifito	Herbáceo	Reserva Tegolome, municipio de Tlanchinol	21°01'16.7 N 98°38'43.6 W 1,541 m	14-Oct-16
<i>P. mickelii</i>	Terrestre	Herbáceo	Lontla, municipio de Tlanchinol	21°01'49.0" N 98°38'22.2" W 1,459 m	8-Oct-11
<i>P. mickelii</i>	Terrestre	Herbáceo	Reserva Tegolome, municipio de Tlanchinol	21°01'16.4" N 98°38'42.5" W 1,528 m	14-Oct-16

A continuación, se presentan los resultados de cada una de las especies, iniciando por la descripción morfológica de la hoja, indumento y patrones de venación, seguidos de la anatomía del pecíolo y raquis, lámina con soro y por último, la descripción de las esporas. El dendograma y el árbol filogenético obtenidos se presentan al finalizar las descripciones morfo-anatómicas de las cuatro especies.

Arachniodes denticulata

Morfología de la hoja

Hojas: Monomórficas, 17.2-43.5 cm de longitud. **Pecíolo:** Más corto que la lámina o ambos con la misma longitud, delgado, 1-2 mm x 8-24.5 cm, castaño, lustroso, con escamas pardo oscuro en la base. **Lámina:** 7.7-19 x 5.5-19 cm, deltada a pentagonal, 2-3 pinnada, 4 pinnada en las pinnas basales; pinnas alternas, 13-17 pares, pediculadas, pinnas basales más grandes que las pinnas medias; pínulas alternas, pediculadas, pínulas basales basiscópicas de las pinnas basales más grandes que el resto, 2.1-5.7 x 0.8-2.7 cm; segmentos oblanceolados a oblongos, margen entero en la base a serrado-espinoso en el ápice; raquis y costas glabros, los surcos adaxiales glabros; nervaduras glabras, conspicuas; soros discretos, sobre la superficie abaxial, redondeados, mediales a supramediales; indusio reniforme, glabro, persistente o caedizo (Cuadro 3 y Figura 6A-F).

Cuadro 3. Medidas de las hojas de los ejemplares herborizados.

Diámetro del pecíolo (mm)	Número de pinnas	Largo de la hoja (cm)	Largo del pecíolo (cm)	Largo de la lámina (cm)	Ancho de la lámina			Largo de las pinnas			Ancho de las pinnas		
					Base (cm)	Parte media (cm)	Ápice (cm)	Basales (cm)	Medias (cm)	Apicales (cm)	Basales (cm)	Medias (cm)	Apicales (cm)
1-2	13-(15)-17	17.2-(27.7)-43.5	8-(14)-24.5	7.7-(13.7)-19	5.5-(13)-19	2.7-(5)-8.9	0.5-(0.7)-1	2.6-(7.7)-12.5	1.9-(3.1)-5.8	0.5-(0.7)-1.2	2.4-(4.6)-7.5	0.7-(1.1)-1.7	0.1-(0.2)-0.3

Patrón de venación: Los segmentos presentan una venación libre, con venas conspicuas, la vena primaria ligeramente más gruesa, simples o una vez bifurcadas, las venas estériles terminan cerca del margen, mientras que las venas fértiles terminan al llegar al receptáculo del soro (Figura 6D-F).

Indumento: Únicamente la base del pecíolo muestra escamas lanceoladas o linear-lanceoladas, de diferentes tamaños, fibrilosas, concoloras, pardo oscuro, con margen ciliado a erosodenticulado (Cuadro 4 y Figura 6F).

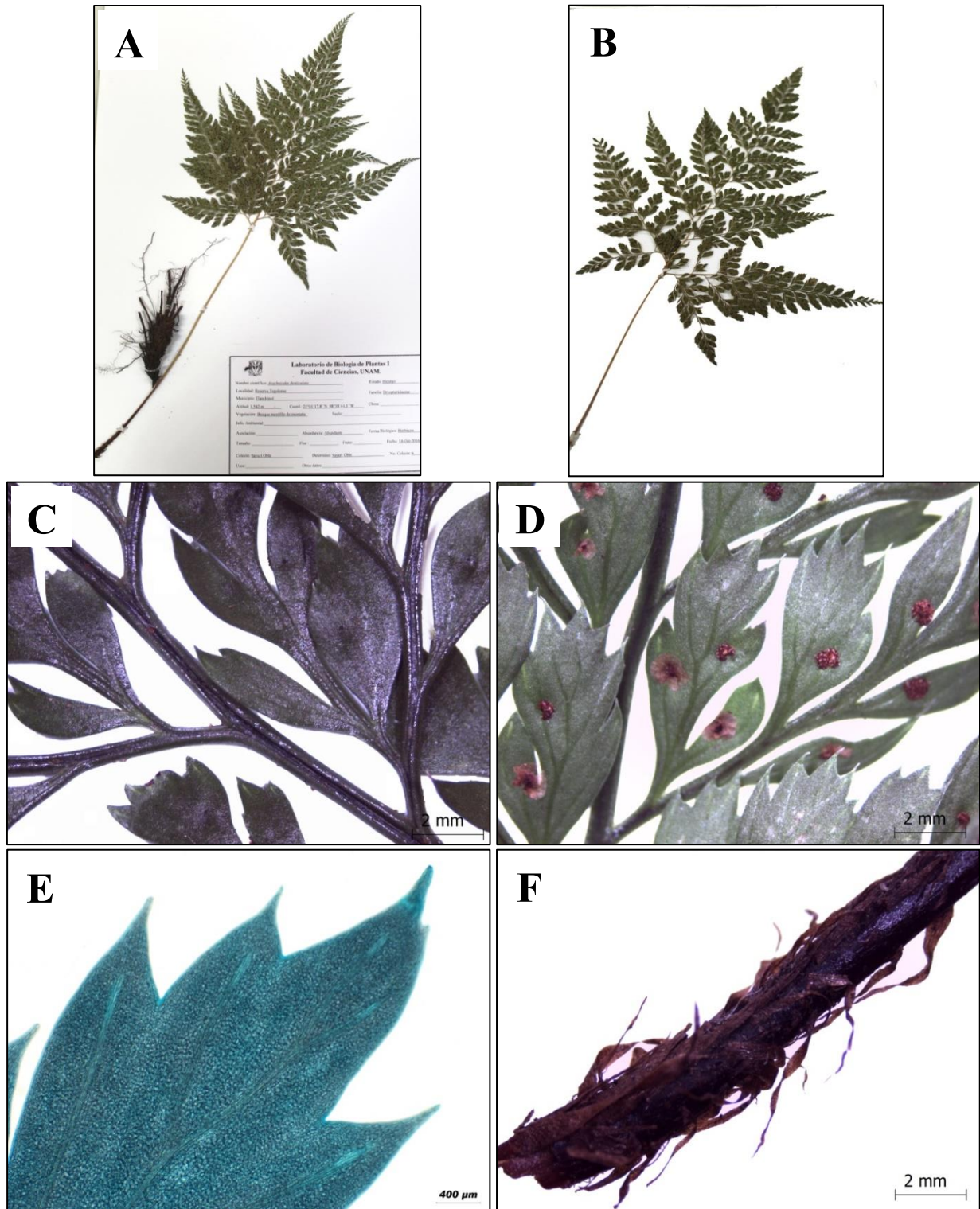




Figura 6. *Arachniodes denticulata*. A. Ejemplar completo herborizado, se aprecia el rizoma, pecíolo y lámina. B. Acercamiento de la lámina. C. Detalle de la lámina, superficie adaxial, se aprecian surcos y lamina glabros. D. Detalle de la superficie abaxial, se aprecia la venación simple, soros e indusio. E. Aclarado de hoja, margen serrado-espinescente en el ápice de los segmentos y venas libres, bifurcadas. F. Indumento de la base del pecíolo con escamas lanceoladas, pardo oscuro.

Cuadro 4. Indumento que se observan en la base del pecíolo de *Arachniodes denticulata*.

Descripción de las escamas	Tamaño	Imagen
Base del pecíolo		
<p>Lanceoladas, con ápice acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo oscuro, basifijas, margen eroso-denticulado, algunas con cilios en la base.</p>	<p>4-10 x 1-2 mm</p>	
<p>Linear-lanceoladas, con ápice acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo oscuro, basifijas, margen ciliado en la base a eroso-denticulado en el ápice.</p>	<p>3-5.5 x 0.3-0.7 mm</p>	

Anatomía de la hoja

Pecíolo y raquis: En corte transversal el pecíolo es ligeramente terete en la base y en forma de “V” en el ápice del raquis, tiene un surco adaxial que surge en el pecíolo y se extiende hacia el raquis (Figura 7).

Cutícula delgada y lisa. Epidermis simple, con células de pared moderadamente engrosada a muy engrosadas, de forma circular a cuadrada, con inclusiones en el lumen celular (Figura 8C).

Córtex formado por colénquima y parénquima, el promedio de las medidas polares es de 487-640 μm en la base del pecíolo y de 156-290 μm en el raquis. Debajo de la epidermis se observa el colénquima con células que tienen paredes engrosadas o ligeramente engrosadas, de forma pentagonal a poligonal, e isodiamétricas, algunas con contenido en su lumen y sin espacios intercelulares; en la base del pecíolo se observan de ocho a 11 estratos de colénquima, en la parte

media del pecíolo de tres a seis estratos y de dos a cuatro estratos en el raquis. Se presentan dos sitios laterales, que corresponden con las líneas de aireación en los que se interrumpe el colénquima y se encuentran células pequeñas de parénquima. Subyacentes al colénquima se encuentran células de parénquima grandes, isodiamétricas a irregulares, de paredes delgadas, con abundantes gránulos de almidón y espacios intercelulares pequeños (Figura 8A-D).

El sistema vascular está compuesto por un estele de tipo polistélico, en el que se observan haces vasculares anficribales, de forma ovalada, arreglados en forma de arco, los dos haces de mayor tamaño se encuentran hacia la cara adaxial y entre ellos los pequeños. El número de haces varía a lo largo del pecíolo, en la base se presentan cuatro haces, en la parte media del pecíolo el número de haces vasculares se reduce a tres, en la base del raquis se presentan uno o dos haces, por último, en el raquis únicamente se observa un solo haz vascular (Figuras 7 y 8A-E).

Los haces vasculares se encuentran rodeados por una capa de células pequeñas rectangulares con paredes radiales ligeramente engrosadas, las cuales corresponden con la endodermis. El periciclo está compuesto por una o dos capas de células, la mayoría con contenido en su lumen. En los haces de mayor tamaño puede observarse xilema en forma de hipocampo, es decir, que termina en un gancho curvado hacia adentro, mientras que los haces de menor tamaño tienen xilema en forma alargada. El floema está compuesto por células pequeñas con paredes delgadas, algunas con contenidos oscuros en el lumen de la célula. En la parte media del pecíolo los haces vasculares están rodeados por un estrato de células rectangulares, grandes, de tamaño similar, que presentan engrosamientos en la pared periclinal interna y que se extiende a las paredes anticlinales en forma de “U”, de color pardo oscuro debido a la presencia de taninos, conocida como banda circumendodermal. La base del pecíolo puede o no presentar la banda circumendodermal, sin embargo, presenta una médula con células de paredes engrosadas, de color pardo oscuro (Figura 8E).

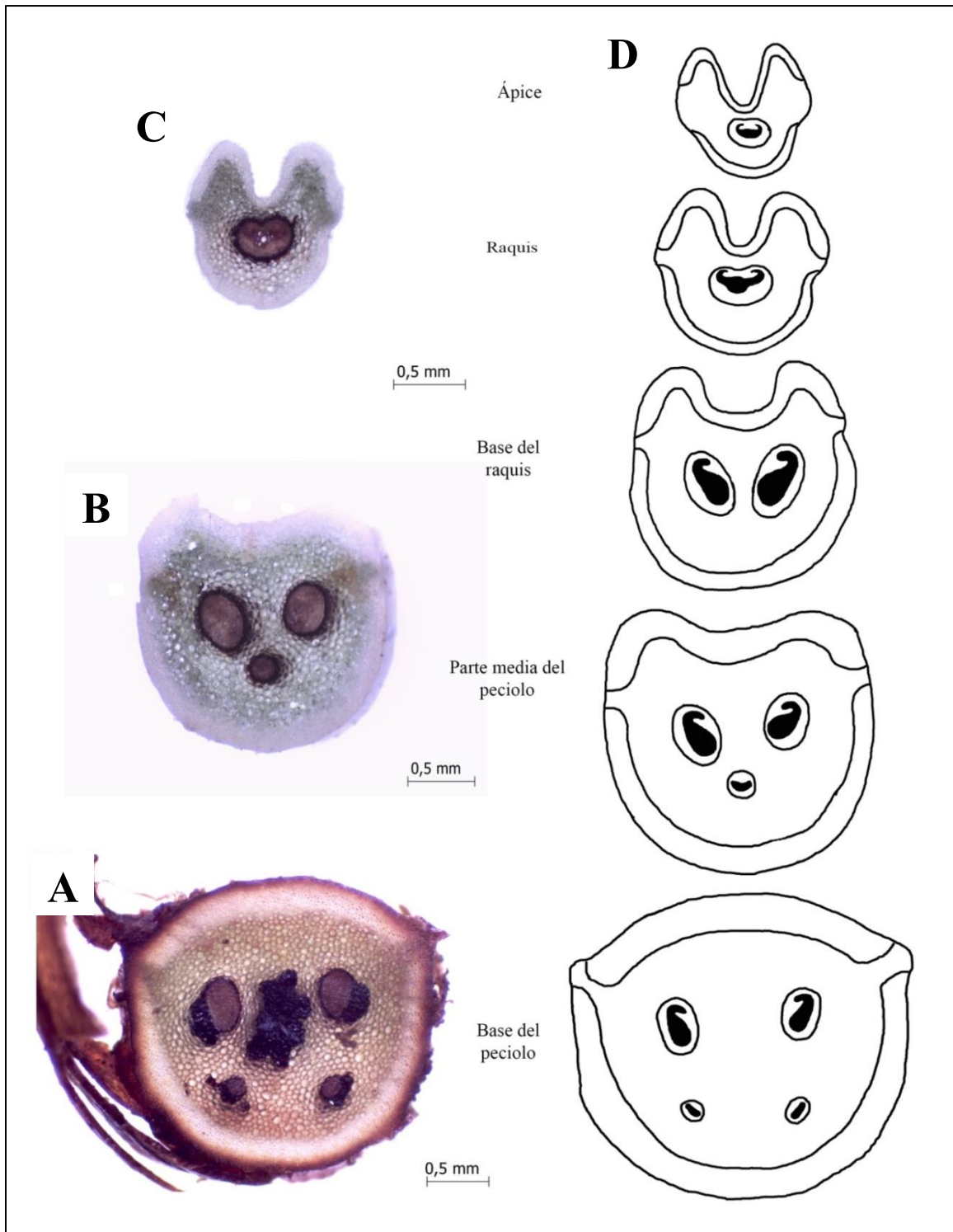


Figura 7. Sistema vascular del peciolo y raquis de *Arachniodes denticulata*. A- C. Cortes frescos transversales de peciolo y raquis. A. Base del peciolo con cuatro haces vasculares y una masa de células con taninos en la médula. B. Parte media del peciolo con tres haces vasculares, rodeados por la banda circumendodermal. C. Raquis con un haz vascular rodeado por la banda circumendodermal. D. Diagrama del sistema vascular del peciolo y raquis donde se observan numerosos haces vasculares en la base del peciolo y se reducen hacia el raquis, arreglados en forma de arco y el xilema en hipocampo.

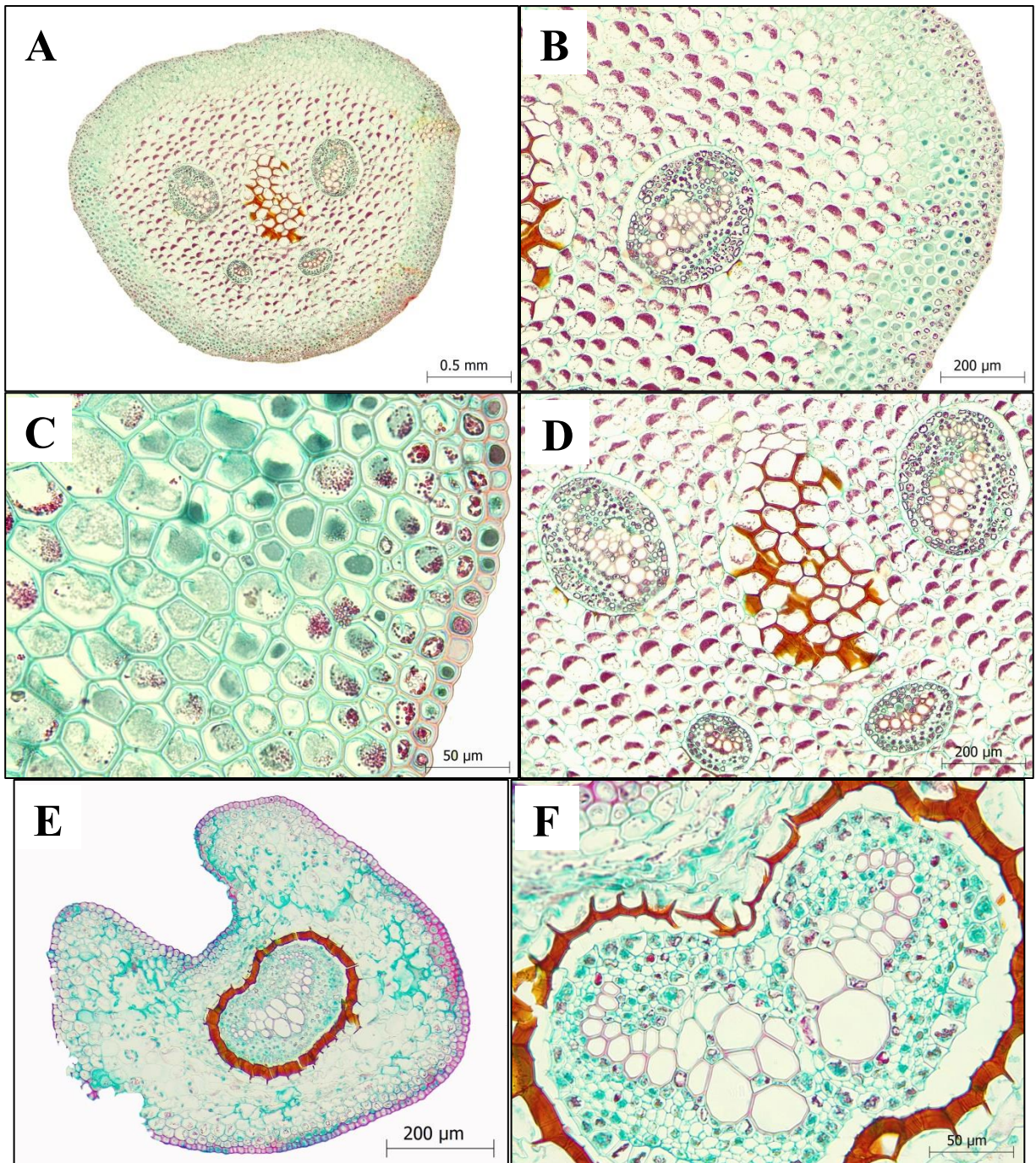


Figura 8. Cortes histológicos transversales de pecíolo y raquis de *Arachniodes denticulata*. A. Base del pecíolo, se aprecia el córtex, el sistema vascular y la médula con células con engrosamientos de taninos. B. Base del pecíolo, se observa la epidermis, el córtex con colénquima y parénquima, el haz vascular con xilema y floema. C. Detalle de la epidermis uniestratificada con paredes ligeramente engrosadas y colénquima con células de paredes engrosadas. D. Detalle del sistema vascular en la base del pecíolo, se observan cuatro haces vasculares con el xilema en hipocampo y floema, la médula con células de paredes engrosadas con depósitos de taninos. E. Base del raquis, se aprecia la epidermis uniestratificada, el córtex con colénquima y parénquima, el haz vascular con xilema en hipocampo y floema, rodeado por la banda circumdodermal con células de paredes engrosadas taninos. F. Acercamiento del raquis, se aprecia el haz vascular con xilema en hipocampo, floema y rodeado por la banda circumdodermal.

Lámina: En vista superficial el modelo epidérmico adaxial presenta células epidérmicas alargadas con radios celulares que van de 2-5:1, el tamaño promedio es 128 x 40 μm , muestran un contorno sinuoso con ondas distantes, amplias y poco profundas. La superficie abaxial presenta células más largas que anchas, más grandes que las de la superficie adaxial, su tamaño promedio es de 145 x 48 μm y tienen un radio celular de 2-4:1, su contorno es sinuoso, con ondas frecuentes, amplias y profundas (Figura 9A-C).

Estomas en la superficie abaxial de los segmentos, presentan una densidad promedio de 22 estomas por mm^2 , el tamaño promedio de las células oclusivas es de 53 μm ; las células oclusivas se encuentran rodeadas por dos, tres o cuatro células subsidiarias, por lo que los tipos de estomas presentes son diacíticos, anisocíticos, tetracíticos y anomocíticos respectivamente; el porcentaje que le corresponde a cada tipo es de 57% para los de tipo anisocítico, 24% para los de tipo tetracítico, 16% para los anomocíticos y 3% para los diacíticos (Figura 9B, C).

Los cortes transversales de los segmentos muestran una epidermis simple, con cutícula delgada y sin cristales; la superficie adaxial tiene células grandes de forma rectangular y redondas, y células pequeñas cubicas o redondas, de paredes ligeramente engrosadas, al nivel de los haces vasculares hay células cúbicas pequeñas de paredes muy engrosadas; las células de la superficie abaxial son de menor tamaño con respecto a las células de la superficie adaxial, de forma rectangular y cúbicas a nivel de los haces vasculares, las paredes son ligeramente engrosadas a muy engrosadas a nivel de los haces vasculares, los estomas se encuentran en la superficie abaxial, al mismo nivel de la epidermis (Figura 10C, D).

El mesófilo está formado por cuatro a seis capas de células de parénquima esponjoso, las células son de forma irregular, presentan espacios intercelulares amplios y abundantes cloroplastos (Figura 10C, D).

Los haces vasculares tienen un arreglo similar al de los haces vasculares de menor tamaño del pecíolo y raquis, presentan una vaina del haz, con células isodiamétricas de distinto tamaño y sin engrosamientos en sus paredes celulares; endodermis con células rectangulares y con abundante contenido en su lumen celular; periciclo compuesto por una sola capa de células irregulares que presentan contenido oscuro en su lumen; floema y xilema (Figura 10C, D).

Estructuras reproductoras: Los aclarados de las pinnas muestran que los soros son mediales a supramediales, se localizan en la parte terminal de las venas, alimentados por una sola vena y esporangios con un anillo vertical. En corte transversal el soro es inserto, con un receptáculo amplio y un indusio con inserción central (Figura 10A, B, E).

Esporas: Monoletes, color pardo oscuro, elipsoidales. El tamaño promedio es de 48 x 31 μm ; lesura de $\frac{2}{3}$ a $\frac{3}{4}$ de la longitud. Ornamentación del perisporio equinada con crestas delgadas, irregulares y numerosas perforaciones de diámetro variable, los bordes de las crestas equinados (Figura 11A-D).

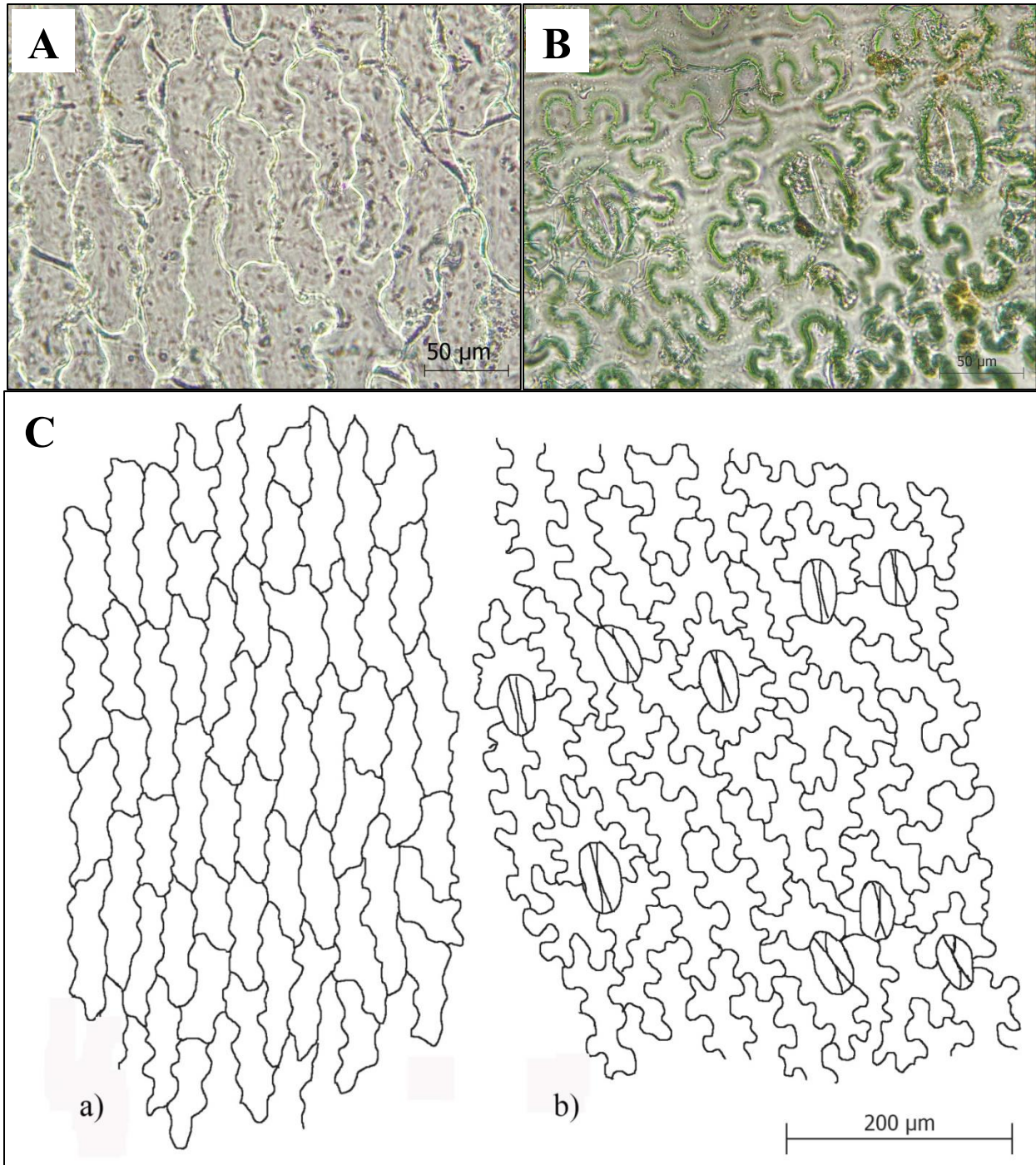


Figura 9. Epidermis *Arachniodes denticulata*. A. Desprendimiento de cutícula superficie adaxial, se aprecian células epidérmicas sinuosas con ondas poco profundas. B. Desprendimiento de cutícula superficie abaxial, se observan células epidérmicas de contorno sinuoso con ondas profundas y estomas anisocíticos y tetracítico. C. Modelo epidérmico a) superficie adaxial y b) superficie abaxial.

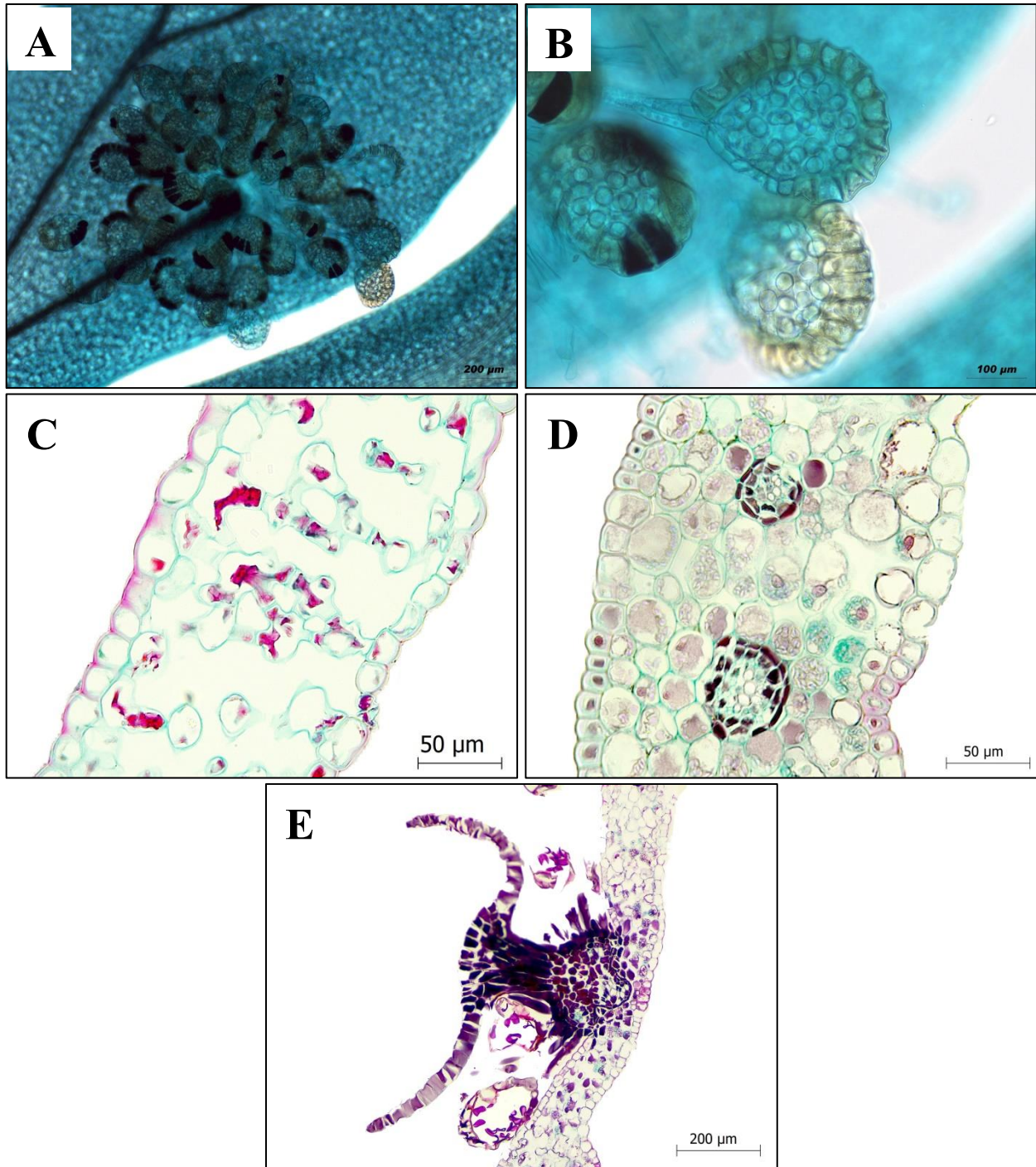


Figura 10. Lámina de *Arachniodes denticulata*. A y B. Aclarados de pínulas. A. Soro redondeado, en la parte terminal de la vena, venación simple, bifurcada. B. Detalle de esporangios con anillo vertical y esporas. C-E. Cortes histológicos transversales de los segmentos. C. Epidermis uniestratificada y mesófilo con parénquima esponjoso. D. Epidermis, mesófilo con parénquima esponjoso y nervadura con xilema, floema y endodermis con contenido oscuro en el lumen y una capa de células en la vaina del haz. E. Corte transversal de lámina con soro, se aprecia un receptáculo amplio, de numerosas células, indusio con inserción central y esporangios.

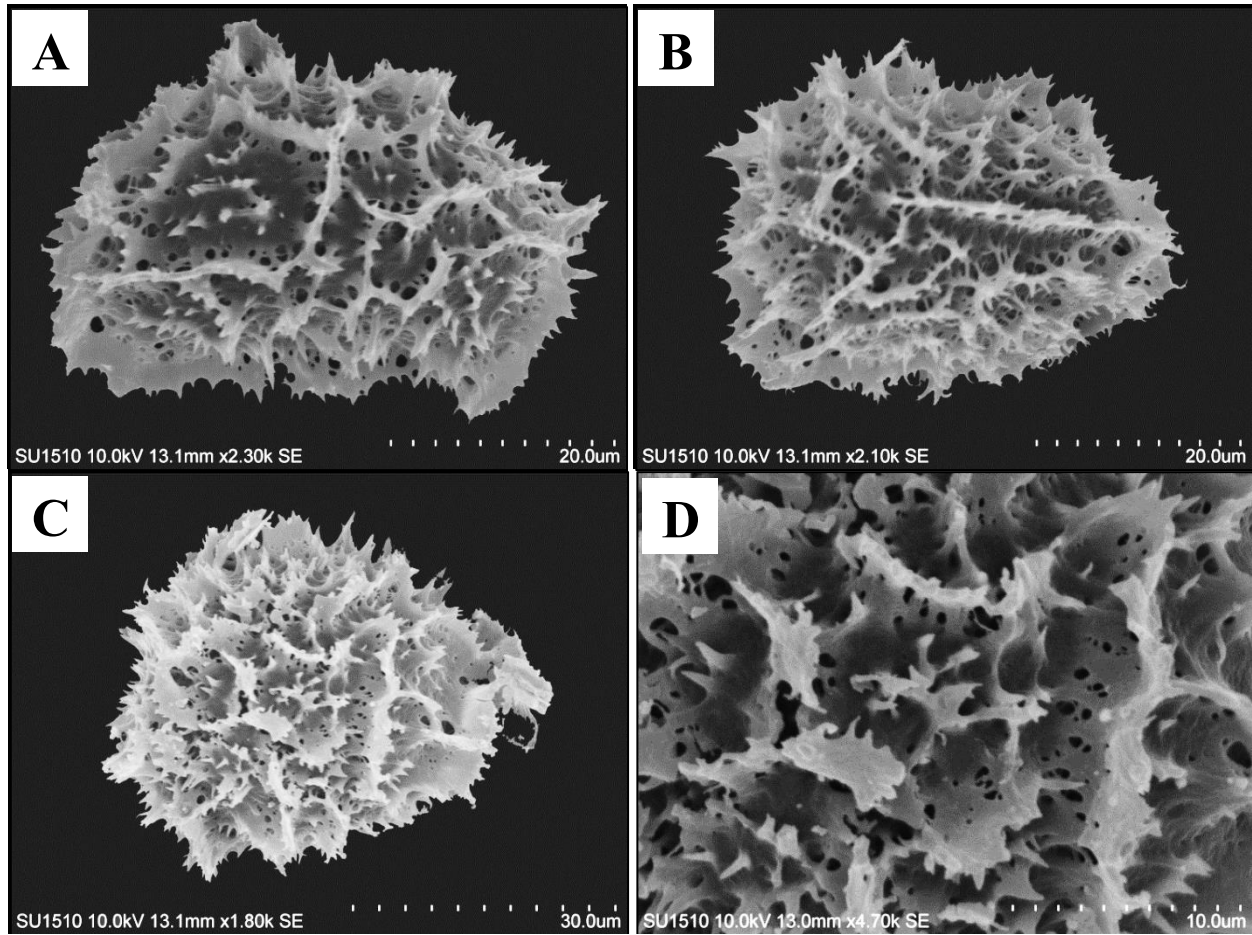


Figura 11. Esporas monoletes, elipsoidales de *Arachniodes denticulata*, con ornamentación del perisporio equinada con crestas delgadas y numerosas perforaciones. A. Vista ecuatorial. B. Vista proximal. C. Vista distal. D. Acercamiento del perisporio.

Dryopteris wallichiana

Morfología de la hoja

Hojas: Monomórficas, 46-103 cm de longitud. **Pecíolo:** Más corto que la lámina, 0.5-1 cm x 12-28 cm, castaño oscuro, densamente escamoso, escamas lanceoladas, pardo oscuro. **Lámina:** Tres a cuatro veces la longitud del pecíolo, 34-76 x 14-28 cm, ovado-lanceolada, 1-pinnado-pinnatifida o completamente 2-pinnada en la base de la pinnas más grandes; pinnas opuestas a subopuestas, de 32-42 pares, cortamente pediculadas, pinnas medias más grandes que las basales, hasta 14.5 x 2.4 cm; pínulas oblongas, ápice redondeado a truncado, margen revoluto, entero a denticulado en el ápice; raquis y costas densamente escamosos, surcos adaxiales escamosos; nervaduras escamosas; soros discretos, en la superficie abaxial, redondeados, mediales o submediales; indusio reniforme, pardo, glabro, contraído en la madurez exponiendo a los esporangios (Cuadro 5 y Figura 12A-E).

Cuadro 5. Medidas de las hojas de los ejemplares herborizados de *D. wallichiana*.

Diámetro del pecíolo (mm)	Número de pinnas	Largo de la hoja (cm)	Largo del pecíolo (cm)	Largo de la lámina (cm)	Ancho de la lámina			Largo de las pinnas			Ancho de las pinnas		
					Base (cm)	Parte media (cm)	Ápice (cm)	Basales (cm)	Medias (cm)	Apicales (cm)	Basales (cm)	Medias (cm)	Apicales (cm)
5-(6)-8	32-(37)-42	46-(75.5)-103	12-(21.6)-28	34-(54.3)-76	8-(13.5)-19.5	14-(21.2)-28	0.4-(0.6)-0.9	3.8-(6.8)-10.2	6.5-(10.6)-14.5	0.3-(0.4)-0.6	1.2-(1.6)-2.3	1.4-(1.8)-2.4	0.1-(0.2)-0.3

Patrón de venación: Segmentos con venas libres, conspicuas, vena primaria más gruesa, una a dos veces bifurcadas, terminando muy cerca del margen (Figura 12E).

Indumento: El pecíolo y raquis presenta escamas lanceoladas o linear lanceoladas con un ápice acuminado, de diferentes tamaños, fibrilosas, concoloras pardo claro, sin embargo, hay regiones en las que las células exhiben un contenido oscuro, que les da la apariencia de ser bicoloras, los márgenes pueden ser enteros, eroso-denticulados o ciliados. Las escamas de los surcos adaxiales del raquis y las costas, así como las que se encuentran en las venas y la superficie abaxial de la hoja son lineares con ápice acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo claro, basicópicas y margen ciliado (Cuadro 6 y Figura 12B-F).

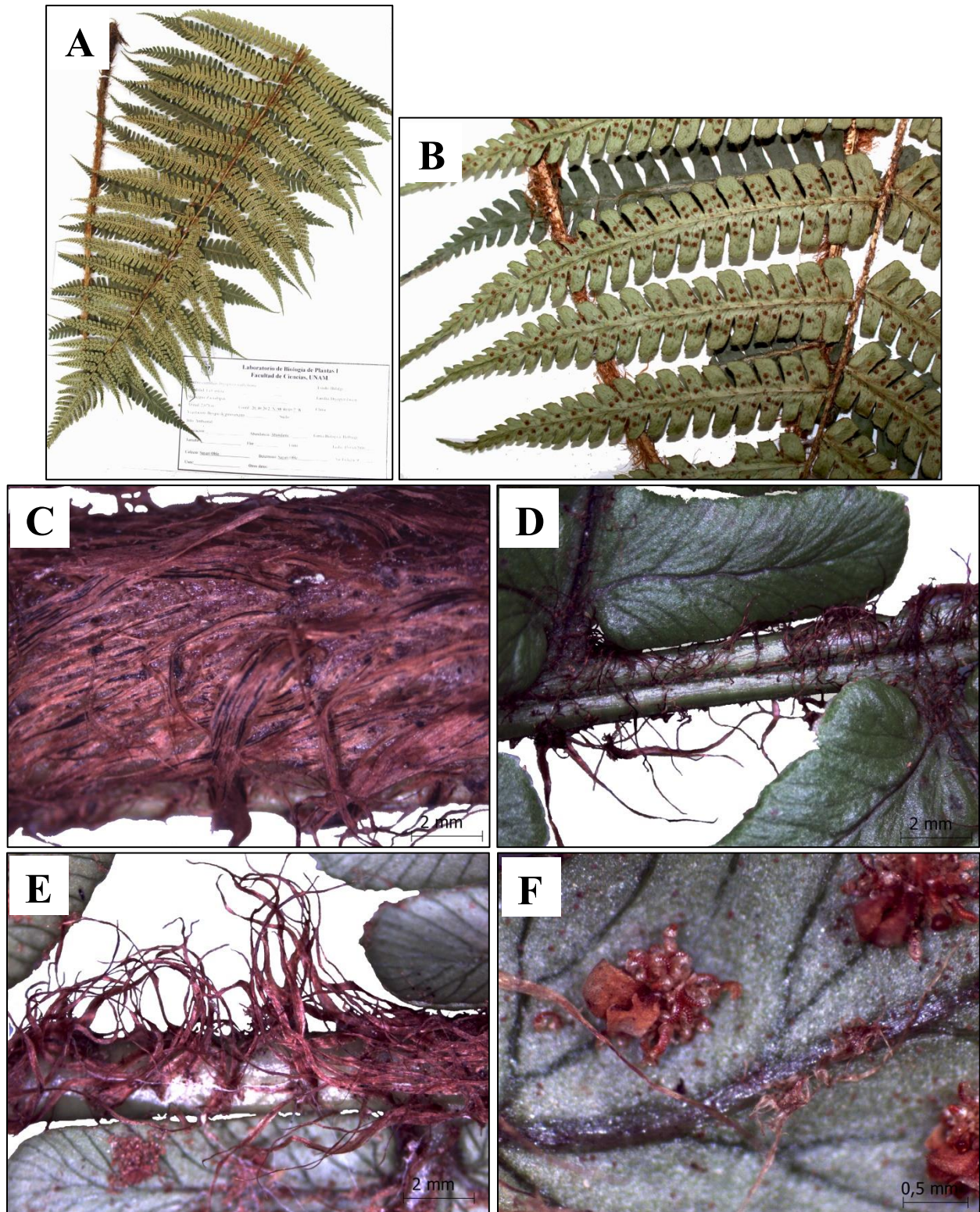






Figura 12. Hoja de *Dryopteris wallichiana*. A. Ejemplar herborizado donde se observa el pecíolo y la lámina. B. Acercamiento de la lámina, se aprecian las pinnas con soros. C. Indumento de la base del pecíolo. D. Acercamiento a las escamas lineares en el surco adaxial del raquis. E. Acercamiento al indumento en la superficie abaxial. F. Detalle del soro, se aprecia el indusio, esporangios e indumento.

Cuadro 6. Indumento del pecíolo, raquis y costas que se observa en *Dryopteris wallichiana*.

Descripción de la escama	Tamaño	Imagen
Parte proximal del pecíolo		
<p>Lanceoladas a linear-lanceoladas, con ápice acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo claro con regiones pardo oscuro, basicópicas, margen entero a erosodenticulado.</p>	<p>14-22 x 1-4 mm</p>	
<p>Linear-lanceoladas, con ápice acuminado, fibrilosas, concoloras, castaño claro, basicópicas, margen ciliado en la base a erosodenticulado o entero en el ápice.</p>	<p>3-10 x 0.3-1 mm</p>	
Parte distal del pecíolo, raquis y costas		
<p>Linear-lanceoladas, con ápice acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo claro con regiones pardo oscuro, basicópicas, margen ciliado en la base a erosodenticulado o entero en el ápice.</p>	<p>10-19 x 1-1.5 mm 2.3-10.5 x 0.3-0.8 mm</p>	

Surcos adaxiales del raquis y costas, venas		
Lineares con ápice acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo claro, basiscópicas, margen ciliado.	0.5-4 x 0.1-0.4 mm	

Anatomía de la hoja

Pecíolo y raquis: En corte transversal el pecíolo es semi-terete en la base y en forma de “V” en el ápice del raquis, presenta un surco adaxial que comienza en el pecíolo y se extiende hacia la parte apical del raquis (Figura 13).

Cutícula delgada y lisa. Epidermis simple, con células de pared ligeramente engrosada, de forma circular a cuadrada, algunas con contenido en su lumen (Figura 14D).

Córtex formado por colénquima y parénquima, el promedio de las medidas polares es de 658-810 μm en la base del pecíolo y de 220-550 μm en el raquis. El colénquima debajo de la epidermis presentan células con paredes ligeramente engrosadas a engrosadas, isodiamétricas, algunas con contenido oscuro en su lumen y sin espacios celulares entre ellas; en la base del pecíolo se observan de 11-16 estratos, y en el raquis se observan de seis a diez estratos. Se presentan dos zonas laterales en las que se interrumpe el colénquima y se encuentran células pequeñas de parénquima, que corresponden con las líneas de aireación. Subyacente al colénquima se presentan células parenquimáticas grandes, isodiamétricas, con paredes delgadas, protoplasto con abundantes gránulos de almidón y con espacios intercelulares pequeños entre ellas. El parénquima medular está compuesto por células muy grandes de forma irregular, con paredes celulares delgadas, algunas con contenido en su lumen y espacios intercelulares pequeños (Figura 14A-D).

El sistema vascular está compuesto por un estele de tipo polistélico, en el que se observan haces vasculares anficribales, circulares, arreglados en forma de arco, con los dos haces de mayor tamaño en la cara adaxial y entre ellos los pequeños. El número de haces es variable a lo largo del pecíolo y raquis pero en general tiende a reducirse hacia el raquis, en la base varía de diez a ocho, incluso pueden presentarse once haces, en la parte media del pecíolo y la base del raquis el

número varía entre siete y ocho haces, mientras que en el raquis van de cinco en la parte media a uno en la parte apical (Figuras 13 y 14A-E).

Los haces vasculares están rodeados por la banda circumendodermal compuesta un estrato de células isodiamétricas, rectangulares o cuadradas, de distinto tamaño, que presentan engrosamientos de color pardo oscuro debido a la presencia de taninos, en su pared periclinal interna y en las paredes anticlinales en forma de “U”, algunas células presentan engrosamientos en sus cuatro paredes celulares. La endodermis está formada por una sola capa de células pequeñas rectangulares, con paredes radiales ligeramente engrosadas. El periciclo está compuesto de una a cuatro capas de células, la mayoría con contenidos oscuros en el lumen. Los haces de mayor tamaño presentan xilema en forma de hipocampo, mientras que los haces de menor tamaño tienen xilema en forma alargada. El floema está compuesto por células pequeñas con paredes de diferente grosor, algunas con contenidos oscuros en el lumen de la célula (Figura 14A, B, C, E, F).

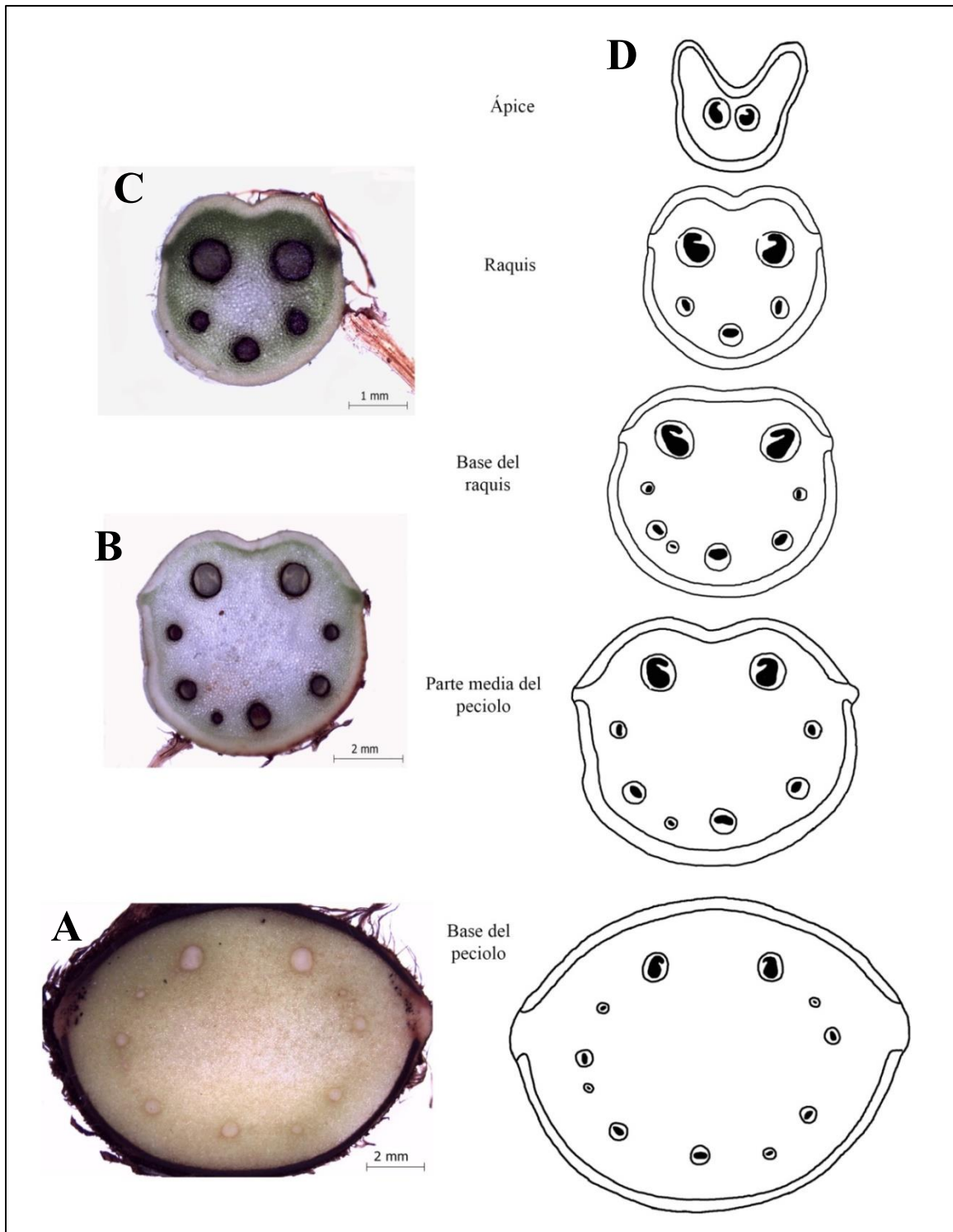


Figura 13. Sistema vascular en el peciolo y raquis de *Dryopteris wallichiana*. A- C. Cortes frescos transversales de peciolo y raquis. A. Base del peciolo con 11 haces vasculares. B. Parte media del peciolo con ocho haces vasculares, rodeados por la banda circumdodermal y el xilema en hipocampo en los dos haces mayores. C. Raquis con cinco haces vasculares. D. Diagrama del sistema vascular del peciolo y raquis en donde se muestra el comportamiento de los haces vasculares que van disminuyendo hacia el raquis.

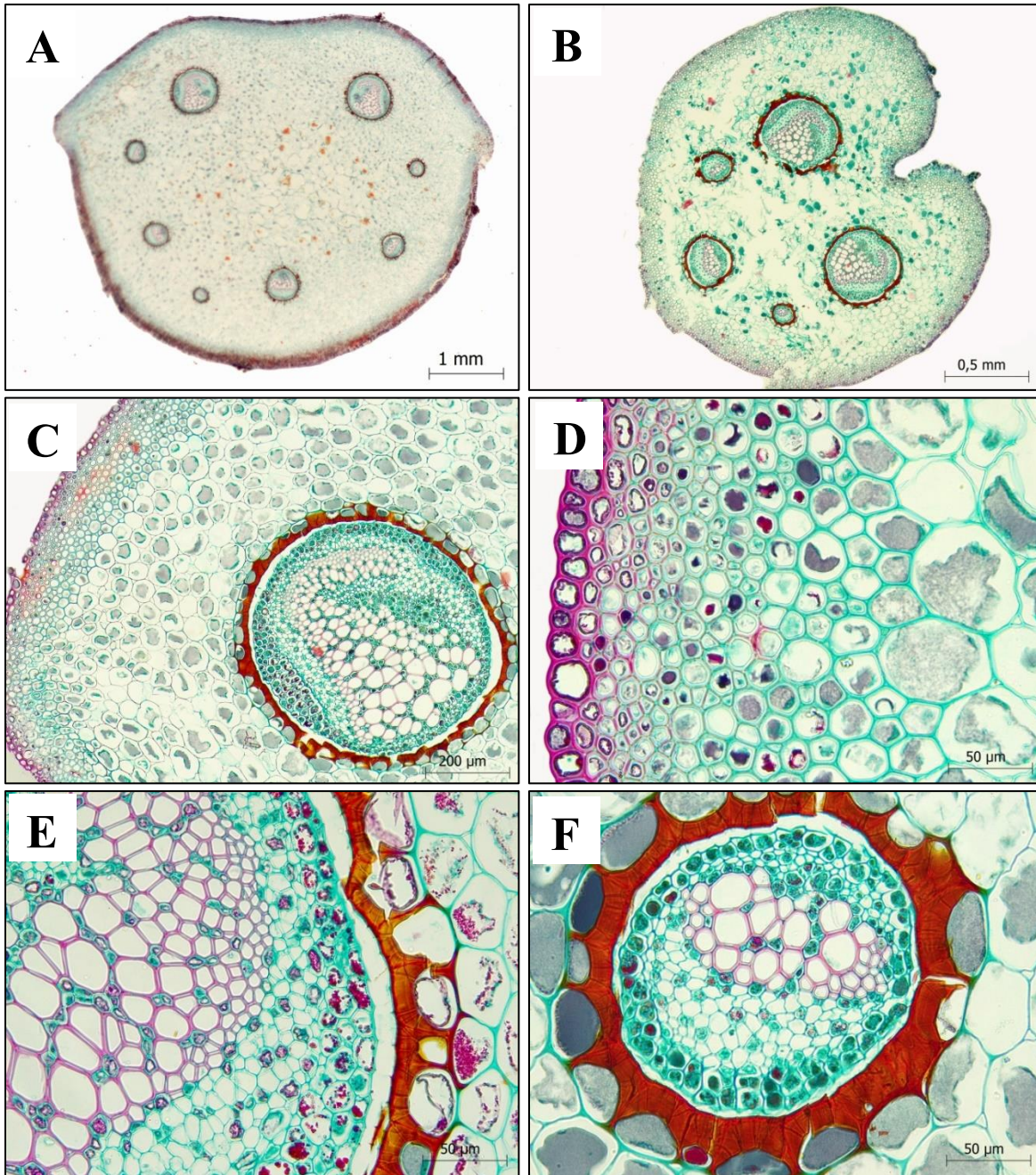


Figura 14. Cortes histológicos transversales de pecíolo y raquis de *Dryopteris wallichiana*. A. Base del pecíolo, se aprecia el córtex con colénquima y parénquima, el sistema vascular con ocho haces vasculares y la médula con células grandes de parénquima. B. Raquis donde se distingue el córtex, el sistema vascular con cinco haces vasculares formados por xilema y floema, y rodeados por la banda circumendodermal. C. Base del raquis, acercamiento al córtex donde se ven las células del colénquima y del parénquima y un haz vascular con xilema en hipocampo y floema, rodeado por la banda circumendodermal. D. Parte media del pecíolo, detalle de la epidermis uniestratificada, con células de paredes engrosadas y colénquima con células con engrosamientos en sus paredes. E. Base del pecíolo, detalle del haz vascular mayor, donde se aprecia el xilema, floema, periciclo, endodermis y la banda circumendodermal con sus depósitos de taninos. F. Parte media del pecíolo, detalle del haz vascular menor, en donde se aprecia el xilema, floema, periciclo y la banda circumendodermal con los depósitos de taninos.

Lámina: En vista superficial el modelo epidérmico adaxial muestra células alargadas que poseen radios celulares de 1.5-4:1, su tamaño promedio es de 79 x 32 μm , contorno sinuoso con ondas distribuidas regularmente, de amplitud variable y con poca o mediana profundidad. La superficie abaxial con células alargadas que tienen radios celulares de 1.5-3.5: 1, el tamaño promedio es de 77 x 34 μm , contorno sinuoso, las ondas frecuentes, muy profundas y con poca amplitud (Figura 15A-C).

Estomas localizados en la superficie abaxial de los segmentos, en una densidad promedio de 73 estomas por mm^2 , el tamaño promedio de las células oclusivas es de 42 μm ; las células oclusivas se encuentran rodeadas por dos, tres, cuatro, cinco y hasta siete células subsidiarias, por lo que los tipos de estomas presentes son polocítico, anisocítico, tetracítico y anomocítico; el porcentaje que corresponde a cada tipo es 54% para el tipo anisocítico, 21% para el tipo polocítico, anomocítico con un 13% y tetracítico con el 12% (Figura 15B, C).

Los cortes transversales de las pínulas muestran una epidermis simple con cutícula delgada, sus células tienen paredes celulares ligeramente engrosadas y no presentan cristales; en la superficie adaxial son grandes, de forma rectangular y cuadradas a nivel de los haces vasculares, en la superficie abaxial son de menor tamaño con respecto a las células de la superficie adaxial, de forma rectangular a cuadrada al nivel de los haces vasculares, los estomas se encuentran en el mismo nivel de la epidermis (Figura 16C, D).

El mesófilo está compuesto por dos o tres capas de células de parénquima en empalizada, sus células son pequeñas con abundantes cloroplastos, y entre cinco y siete capas de parénquima esponjoso, con células de forma irregular, espacios intercelulares muy amplios y cloroplastos; debajo de la epidermis adaxial y a nivel de los haces vasculares se presentan dos capas de células isodiamétricas pequeñas con paredes engrosadas posiblemente colénquima (Figura 16C, D).

Los haces vasculares tienen un arreglo similar al de los haces vasculares de menor tamaño del pecíolo y raquis, presentan una vaina del haz con células isodiamétricas de diferente tamaño, las cuales muestran engrosamientos de color pardo en sus paredes periclinal interna y anticlinales; endodermis de células rectangulares pequeñas, algunas con contenido oscuro en su interior; periciclo de una sola capa de células isodiamétricas de diferente tamaño, algunas con contenido color marrón; floema y xilema (Figura 16C, D).

Estructuras reproductoras: Los aclarados de las pinnas muestran que los soros son mediales o submediales, se encuentran en la parte media de las venas, alimentados por una sola vena y esporangios con un anillo vertical. Los cortes transversales muestran el soro inserto, con un receptáculo amplio y un indusio con inserción central (Figura 16A, B, E y F).

Esporas: Monoletes, color pardo oscuro, elipsoidales. El tamaño promedio es de 51 x 32 μm ; lesura de $\frac{2}{3}$ a $\frac{3}{4}$ de la longitud. Ornamentación del perisporio rugulado con pliegues gruesos y altos (Figura 17A-D).

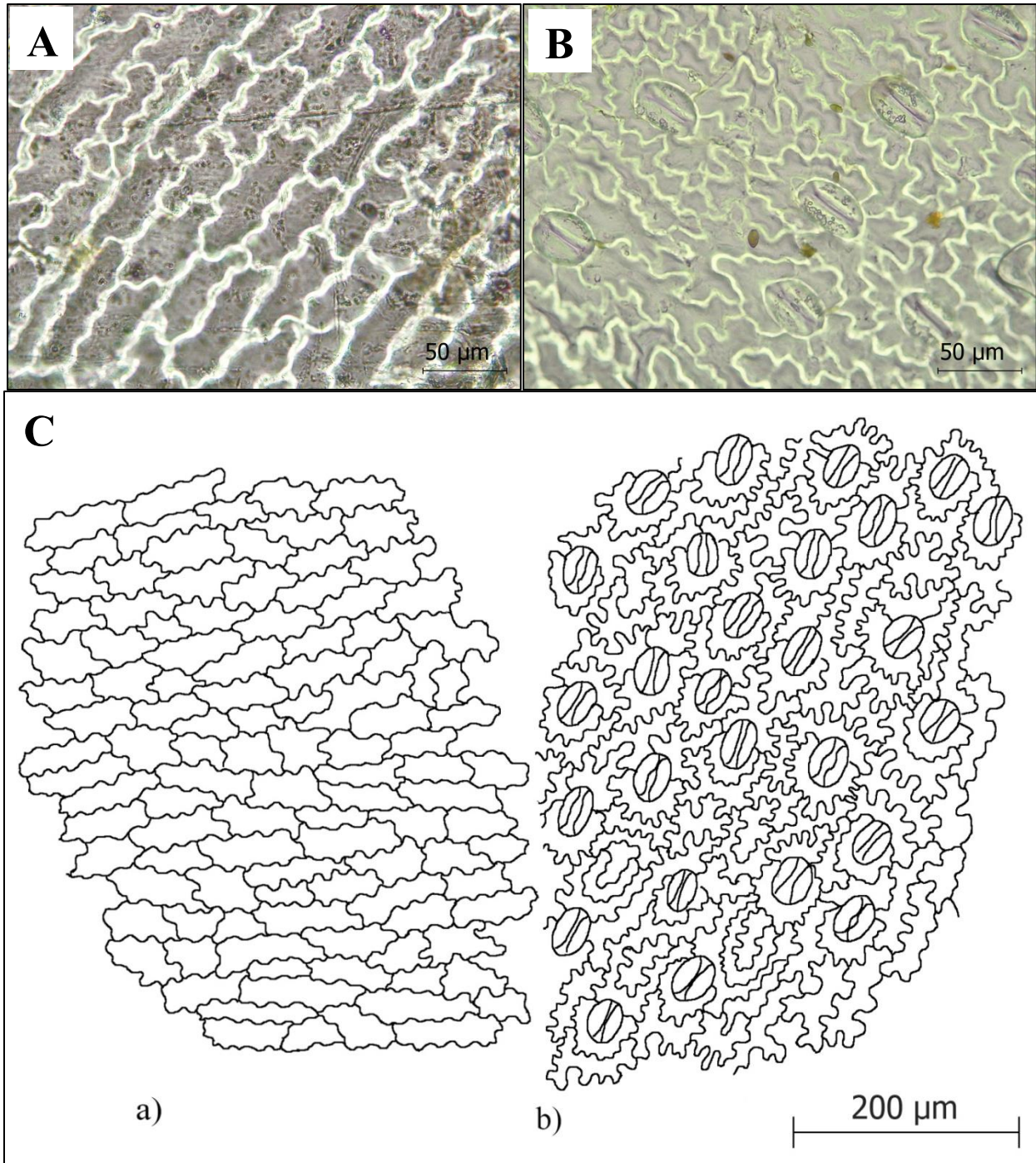


Figura 15. Epidermis *Dryopteris wallichiana*. A. Desprendimiento de cutícula superficie adaxial, se observan células epidérmicas de contorno sinuoso con ondas de profundidad variable. B. Desprendimiento de cutícula superficie abaxial, se aprecian células epidérmicas de contorno sinuoso con ondas profundas y estomas anisocíticos y anomocíticos. C. Modelo epidérmico a) superficie adaxial y b) superficie abaxial.

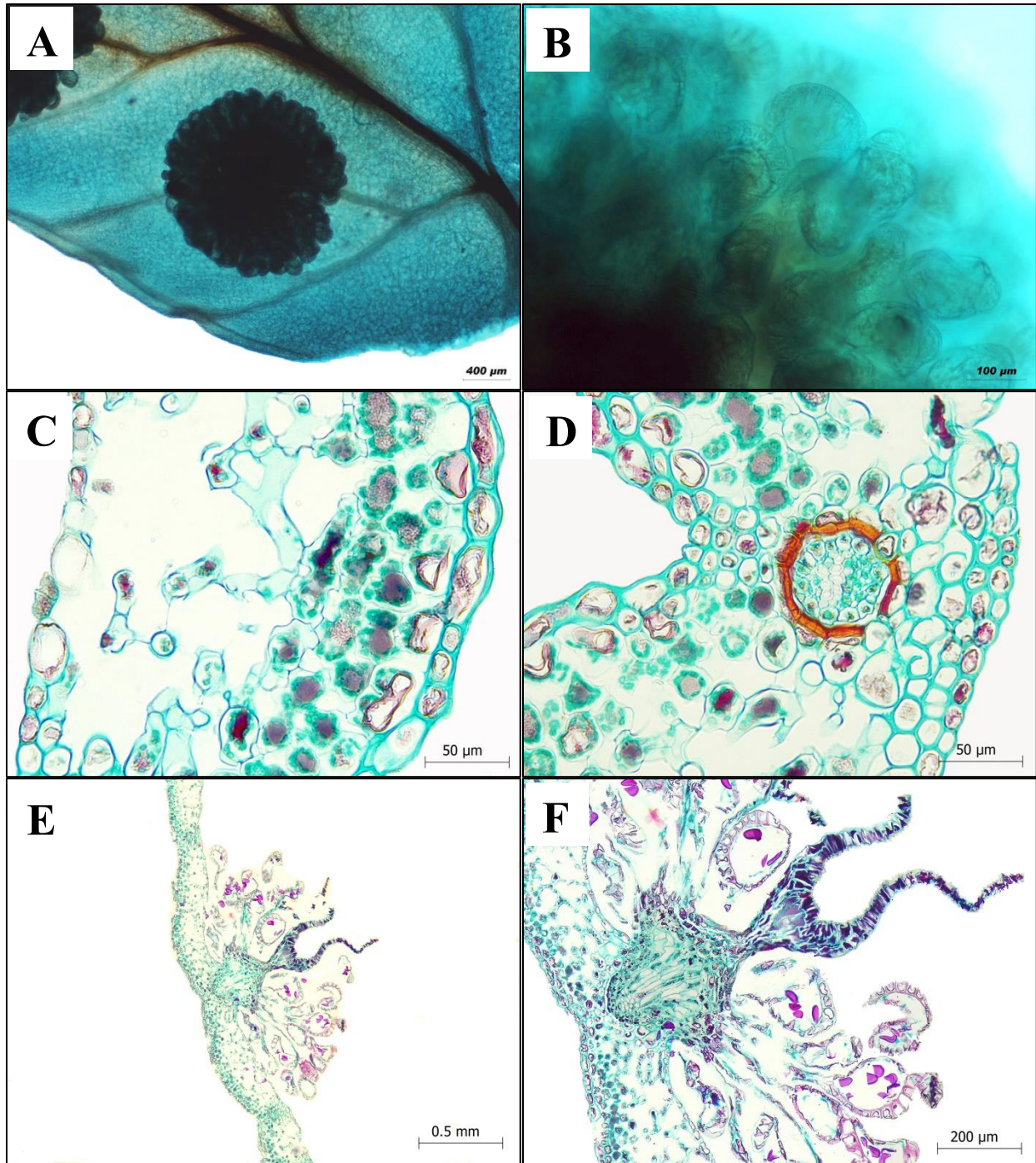


Figura 16. Lámina de *Dryopteris wallichiana*. A, B. Aclarados de pinnulas con soros. A. Soro redondeado en la parte media de la vena, venación simple, bifurcada. B. Detalle de los esporangios con anillo vertical y esporas. C-F. Cortes histológicos transversales de pinnula. C. Epidermis uniestratificada, la abaxial con estomas y el mesófilo con parénquima en empalizada y esponjoso. D. Epidermis, mesófilo con parénquima diferenciado y nervadura con xilema, floema, endodermis y las células de la vaina del haz con paredes con depósitos de taninos. E. Panorámica de la hoja con soro. F. Acercamiento del soro, el receptáculo es amplio, con numerosas células, el indusio tiene inserción central y los esporangios con el anillo vertical.

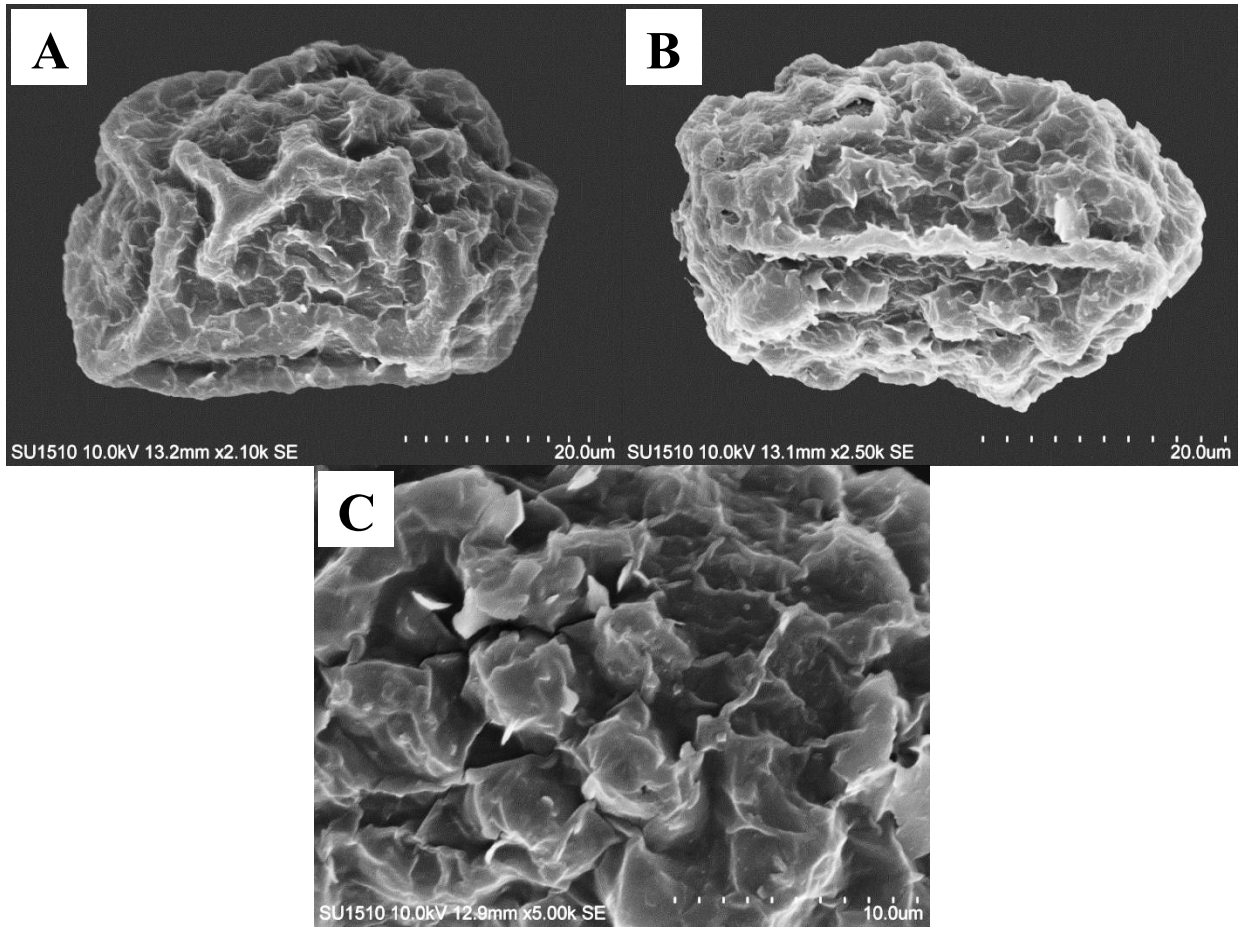


Figura 17. Esporas monoletes, elipsoidales de *Dryopteris wallichiana*. A. Vista ecuatorial. B. Vista proximal. C. Acercamiento del perisporio.

Elaphoglossum peltatum

Morfología de la hoja

Hoja: Dimórficas; hojas fértiles ligeramente más largas que las estériles, de 5-10.2 cm de longitud, mientras que las hojas estériles de 4-10.4 cm. **Pecíolo:** Más largos que las láminas en ambos tipos de hojas, delgados, de 1 mm x 4.4-9.1 cm el de la hoja fértil, 1 mm x 2.5-7.4 cm el de la hoja estéril, esparcidamente escamoso, las escamas pardo claro, amarillentas. **Lámina:** La estéril más ancha que larga, 1.5-3.2 x 2.1-5.3 cm, flabelada, dividida dicotómicamente hasta 6 veces; lámina fértil ligeramente más ancha que larga, de 0.6-1.2 x 0.7-1.4 cm, casi indivisa, generalmente 2-lobada; margen entero; nervaduras glabras, conspicuas; soros acrosticoides (Cuadro 7 y Figura 21A-F).

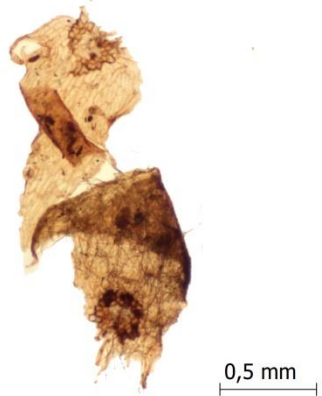
Cuadro 7. Medidas de las hojas de los ejemplares de *E. peltatum*.

	Diámetro del pecíolo (mm)	Largo de la hoja (cm)	Largo del pecíolo (cm)	Largo de la lámina (cm)	Ancho de la lámina (cm)
Hoja estéril	1	4-(7.4)-10.4	2.5-(5)-7.4	1.5-(2.4)-3.2	2.1-(3.5)-5.3
Hoja fértil	1	5-(7.7)-10.2	4.4-(6.7)-9.1	0.6-(1)-1.2	0.7-(1.2)-1.4

Patrón de venación: Venas libres, conspicuas, que se ramifican dicotómicamente y terminan sin tocar el margen (Figura 18C, E).

Indumento: El pecíolo y la lámina presentan escamas pequeñas, deltadas a ovado-lanceoladas, fibrilosas, pardo claro o amarillentas, con margen ciliado en la base y eroso-dentado o entero en el ápice (Cuadro 8 y Figura 18B, D).

Cuadro 8. Indumento del pecíolo y lámina que se observa en *Elaphoglossum peltatum*.

Descripción de las escamas	Tamaño	Imagen
Pecíolo y superficie abaxial de la lámina		
Deltadas a ovado-lanceoladas, concoloras, pardo claro o amarillentas, peltadas, margen ciliado en la base a eroso-dentado en el ápice.	1.2-1.8 x 0.6-0.8 mm	

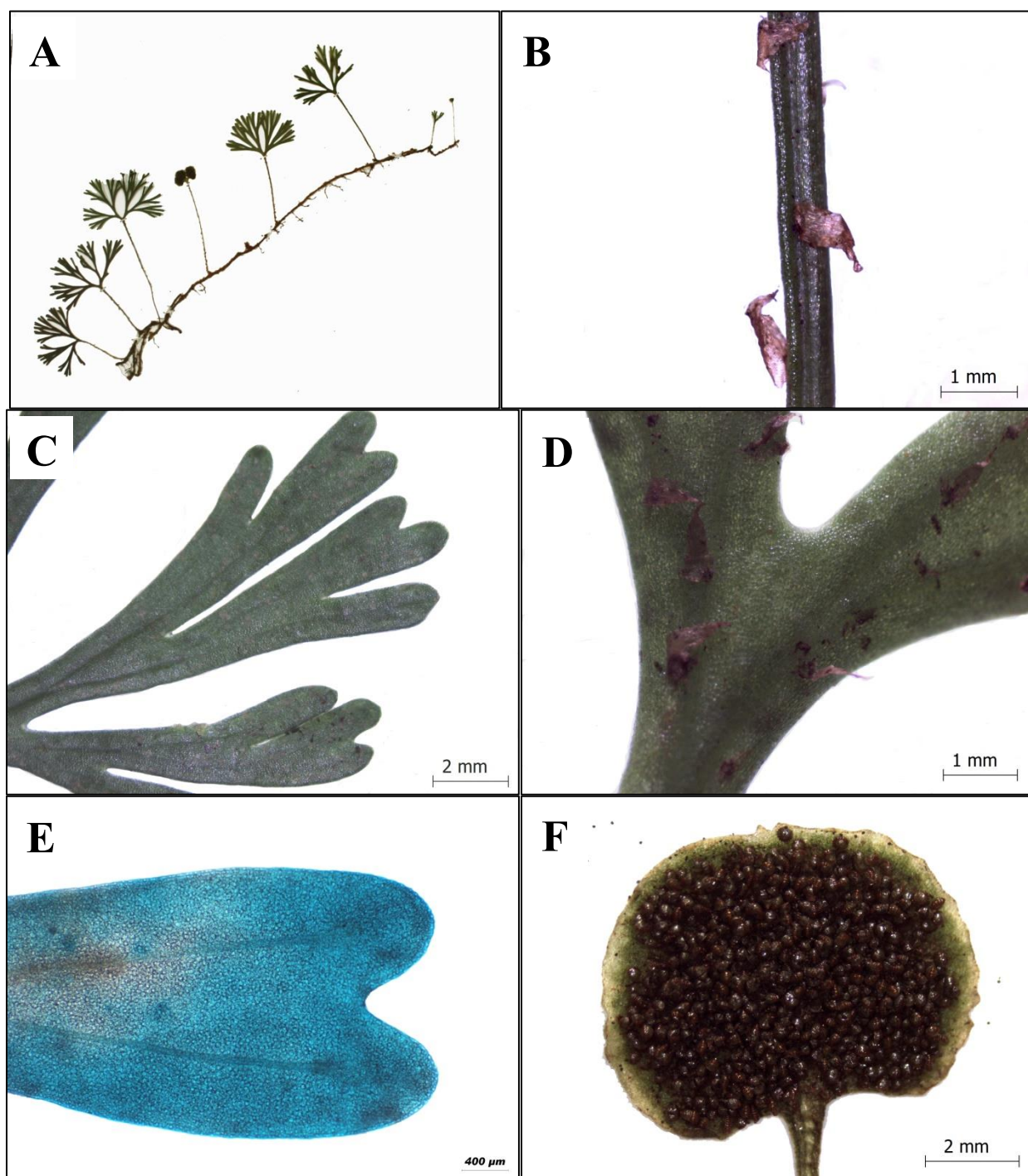


Figura 18. *Elaphoglossum peltatum*. A. Ejemplar de herbario, se observan el rizoma, las hojas estériles y la hoja fértil. B. Pecíolo con escamas deltadas. C-E. Hoja estéril. C. Superficie adaxial sin indumento. D. Superficie abaxial con escamas deltadas. E. Aclarado de hoja, se aprecia margen entero y venación simple. F. Hoja fértil con soro acrosticoide, se aprecian los esporangios.

Anatomía de la hoja

Pecíolo de la hoja estéril: En corte transversal el pecíolo de la hoja estéril es terete en la base, hacia la parte media se presentan dos alas laterales que se extienden hasta la base de la lámina, además de que en la base de la lámina se aprecia un ligero surco adaxial (Figura 19).

Cutícula delgada y lisa. Epidermis simple, con células de pared engrosada, pequeñas, isodiamétricas o cuadradas; generalmente las células de la epidermis de las alas del pecíolo son grandes, semicirculares o isodiamétricas (Figura 20B, D).

Córtex formado por colénquima y parénquima, el promedio de las medidas polares es de 225 μm en la base del pecíolo y de 262-284 μm en la base de la lámina. Debajo de la epidermis, el colénquima presentan células con paredes muy engrosadas, de forma isodiamétrica a poligonal; en la base del pecíolo se presentan entre tres y cinco estratos; mientras que en la base de la lámina se observan de uno a tres estratos en la superficie adaxial y de dos a cuatro estratos en la superficie abaxial. Debajo del colénquima se encuentran parénquima con células isodiamétricas, de diferentes tamaños, espacios intercelulares pequeños y grandes entre ellas, con paredes delgadas y abundantes cloroplastos arreglados en forma de cuentas de rosario alrededor del protoplasto. En las alas, debajo de la epidermis únicamente se observa parénquima constituido hasta por cinco estratos de células, de igual manera las células son de diferentes tamaños, isodiamétricas, con paredes delgadas, presentan abundantes cloroplastos, con el mismo arreglo que en el resto del parénquima (Figura 20B y D).

El sistema vascular está formado por un estele de tipo distélico, en el que se observan dos haces vasculares anficribales, de forma circular y de igual tamaño, los cuales permanecen constantes desde la base del pecíolo hasta la base de lámina (Figura 19 y Figura 20B, D y E).

Los haces vasculares están rodeados por la banda circumendodermal formada por estrato de células isodiamétricas, de tamaños diferentes, con engrosamientos hialinos en su pared periclinal interna y en algunas también en sus paredes anticlinales. La endodermis está formada por una sola capa de células pequeñas rectangulares, con paredes radiales ligeramente engrosadas. El periciclo está compuesto por una sola capa de células cuadradas, algunas con contenido oscuro en su lumen. El xilema se arregla en forma de hipocampo, presentan un pequeño gancho ligeramente curvado hacia el centro. El floema está compuesto por células de distinto tamaño, con paredes de diferente grosor, algunas con contenidos oscuros en su lumen (Figura 20D y E).

Pecíolo hoja fértil: Los cortes transversales del pecíolo de la hoja fértil igualmente revelan un pecíolo terete en la base, semiterete en la parte media y en forma de “U” justo antes de comenzar la lámina. Tanto la base del pecíolo como la parte media muestran una epidermis, córtex y sistema vascular con características similares a las que se describen para el pecíolo de la hoja estéril. Sin embargo, la base de la lámina resulta particularmente diferente ya se observa que el número de haces vasculares aumenta a cuatro, además de que los engrosamientos de las células

que rodean los haces vasculares no son hialinos, sino que son de color pardo oscuro (Figura 19 y Figura 20A, C y F).

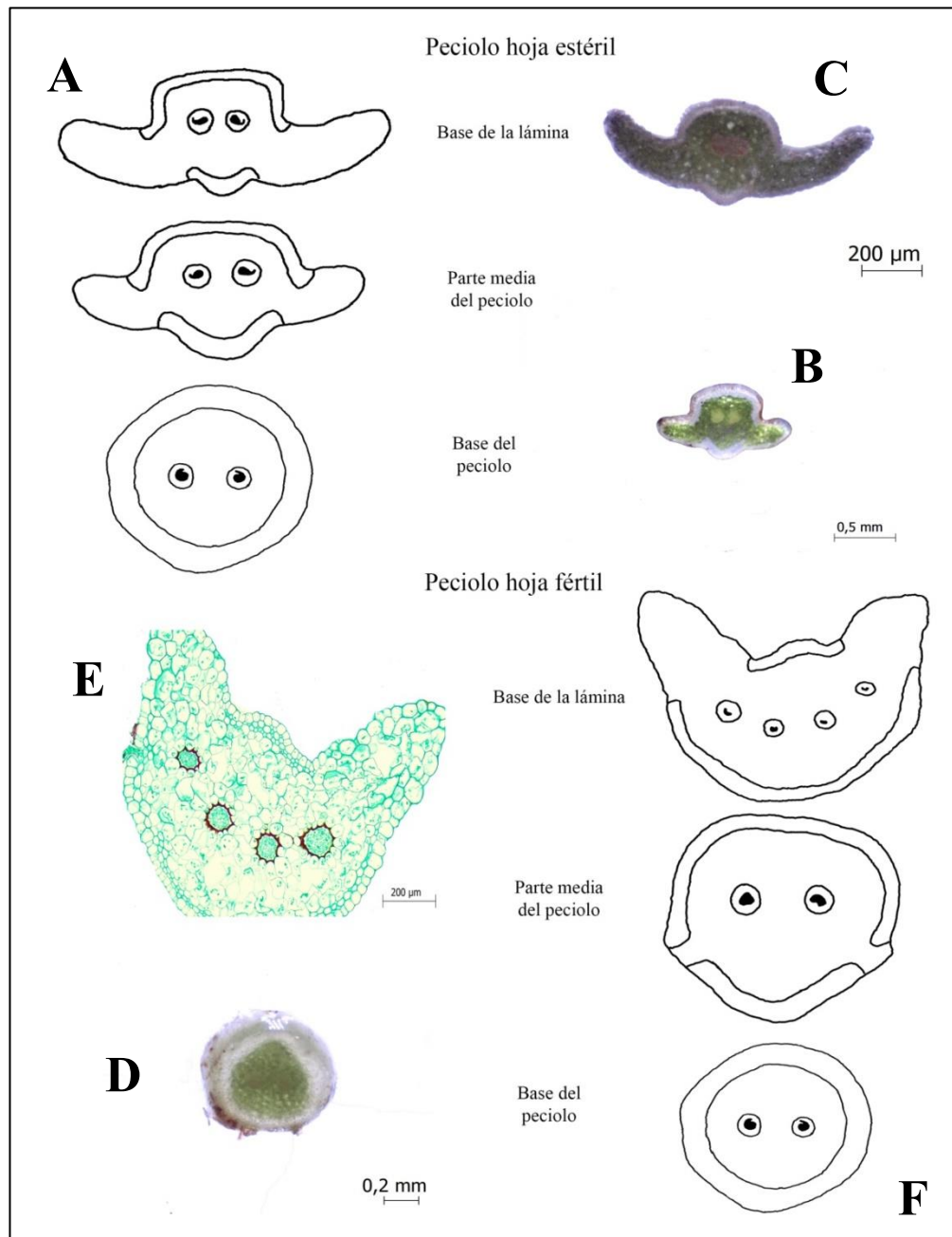


Figura 19. Sistema vascular en el peciolo de la hoja estéril y de la hoja fértil de *Elaphoglossum peltatum* A- C. Diagrama y cortes frescos transversales del peciolo de la hoja estéril, se mantienen dos haces vasculares en todo el peciolo. B. Corte fresco de la parte media del peciolo, se observan dos haces vasculares. C. Corte fresco de la base de la lámina. D-F. Diagrama y cortes transversales del peciolo de la hoja fértil. D. Corte fresco de la base del peciolo con dos haces vasculares. E. Corte histológico de la base de la lámina, se aprecian cuatro haces vasculares, rodeados por la banda circumdodermal con depósitos de taninos. F. Diagrama del sistema vascular del peciolo de la hoja fértil, en la base del peciolo se observan dos haces los cuales aumentan a cuatro antes de comenzar la lámina.

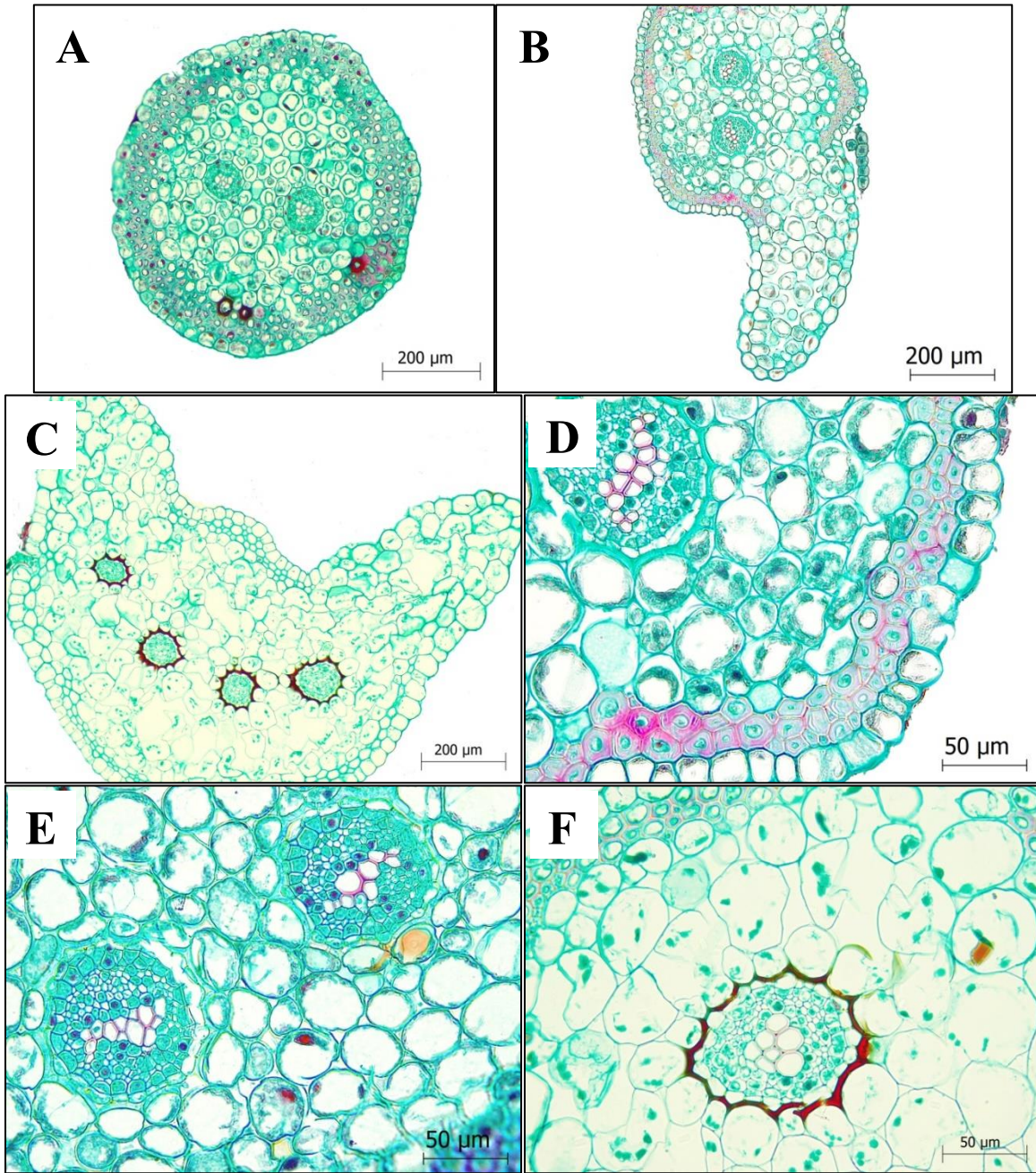


Figura 20. Cortes histológicos transversales de pecíolo de la hoja estéril y la hoja fértil de *Elaphoglossum peltatum*. A. Base del pecíolo de la hoja fértil, donde se observa la epidermis, córtex formado por colénquima y parénquima y el sistema vascular con dos haces vasculares. B. Base de la lámina de la hoja estéril, se aprecia la epidermis, colénquima, parénquima y el sistema vascular. C. Base de la lámina de la hoja fértil, se presentan cuatro haces vasculares rodeados por la banda circumendodermal con depósitos de taninos. D. Base de la lámina de la hoja estéril, la epidermis es uniestratificada, córtex con colénquima y parénquima y un haz vascular con xilema, floema, periciclo, endodermis y banda circumendodermal. E. Base del pecíolo de la hoja estéril, detalle del parénquima y los haces vasculares con xilema en hipocampo, floema, periciclo, endodermis y banda circumendodermal con paredes engrosadas y sin depósitos de taninos. F. Parte media de la hoja estéril, se observa la epidermis uniestratificada, colénquima, parénquima y un haz vascular rodeado por la banda circumendodermal con depósitos de taninos.

Lámina: La vista superficial de la lámina estéril muestra un modelo epidérmico en donde se pueden observar células epidérmicas alargadas y células epidérmicas cuadradas en ambas superficies. La superficie adaxial con células epidérmicas alargadas que tienen un tamaño promedio de 105 x 42 μm y radios celulares que van de 1.5-3.5:1, las células cuadradas poseen un tamaño promedio de 60 x 49 μm y un radio celular de 1-1.5:1; todas las células presentan contorno sinuoso, las ondas están distribuidas irregularmente, de amplitud variable y poca profundidad. La superficie abaxial con células alargadas que tienen un tamaño promedio de 100 x 43 μm y radios celulares van de 2-3:1, las células cuadradas tienen un tamaño de 68 x 57 μm y un radio celular que va de 1-1.5:1; todas las células tienen contorno sinuoso, las ondas son uniformes, de media amplitud y poca profundidad (Figura 21A, B).

La vista superficial de la hoja fértil muestra un modelo epidérmico en la superficie adaxial con células poligonales a subpoligonales, generalmente más largas que anchas, con un tamaño promedio de 154 x 82 μm y radios celulares que van de 1,5-2.5:1, con contornos casi rectos (Figura 21C).

Estomas en la superficie abaxial de la lámina, con una densidad promedio de 19 estomas por mm^2 , las células oclusivas tienen un tamaño promedio de 56 μm , la mayoría de las células oclusivas se encuentran rodeadas por una célula subsidiaria generalmente más grande que las otras dos o tres células subsidiarias y que rodea casi por completo al estoma, en algunos casos existe una célula subsidiaria adicional que envuelve parcialmente a la primera, por lo que los tipos estomáticos y sus porcentajes correspondientes son: polocítico con el 41.1% y copolocítico con el 48.2% respectivamente. Adicionales a estos tipos de estomas se encuentran estomas de tipo diacítico con el 8.9% y anomocítico con el 1.8%, este último con cuatro o cinco células subsidiarias (Figura 21B, C).

Los cortes transversales de la lámina estéril tienen una epidermis simple con cutícula delgada, sus células tienen paredes delgadas y no presentan cristales, en la superficie adaxial son grandes, isodiamétricas a rectangulares, mientras que en la superficie abaxial las células son de menor tamaño con respecto a las células de la superficie adaxial, son de forma rectangular, circular o cuadrada y los estomas se encuentran al mismo nivel de la epidermis (Figura 22A-D).

El mesófilo está formado por una capa de células de parénquima en empalizada, con células grandes y abundantes cloroplastos arreglados en forma de cuentas de rosario alrededor del protoplasto, y entre tres y cuatro capas de parénquima esponjoso, con células de distintos tamaños, de forma isodiamétrica, espacios intercelulares amplios y cloroplastos con el mismo arreglo en forma de cuentas de rosario; debajo de la epidermis adaxial y a nivel del haz vascular se presentan células de paredes muy engrosadas y forma irregular (Figura 22A-D).

Los haces vasculares tienen un arreglo similar al de los haces vasculares del pecíolo, se encuentran rodeados por una vaina del haz cuyas células son isodiamétricas, de diferente tamaño y presentan un engrosamiento hialino en su pared periclinal interna; endodermis con una sola

capa de células rectangulares pequeñas; periciclo de una sola capa de células isodiamétricas; floema y xilema (Figura 22A-D).

Los cortes transversales de la lámina fértil muestran una epidermis simple con cutícula delgada, las células epidérmicas presentan paredes delgadas, son grandes e isodiamétricas en la superficie adaxial, mientras que en la superficie abaxial son más pequeñas, rectangulares a isodiamétricas (Figura 23A-C).

El mesófilo está formado hasta por siete capas de parénquima clorofílico esponjoso, de células grandes, isodiamétricas, con espacios celulares pequeños (Figura 23A-C).

Los haces vasculares presentan una vaina de células isodiamétricas grandes, las cuales pueden o no tener un ligero engrosamiento hialino en su pared periclinal interna; endodermis formada por una capa de células rectangulares con engrosamientos en sus paredes radiales; periciclo formado por una capa de células isodiamétricas de parénquima con abundantes amiloplastos; floema y xilema (Figura 23C).

Estructuras reproductoras: El soro es acrosticoide, es decir, cubre toda la superficie de la lámina fértil. En corte transversal es posible observar que el pie de los esporangios surge a partir de la epidermis abaxial y está formado por tres células, además se aprecian parafisos entre los esporangios (Figura 23A, B, D).

Esporas: Monoletes, color negro, globosas. Tienen un tamaño promedio de 76 x 55 μm ; lesura de 1/2 a 2/3 de la longitud de la espora. Ornamentación del perisporio equinulado, con pliegues anchos y bajos (Figura 23D, Figura 24A-D).

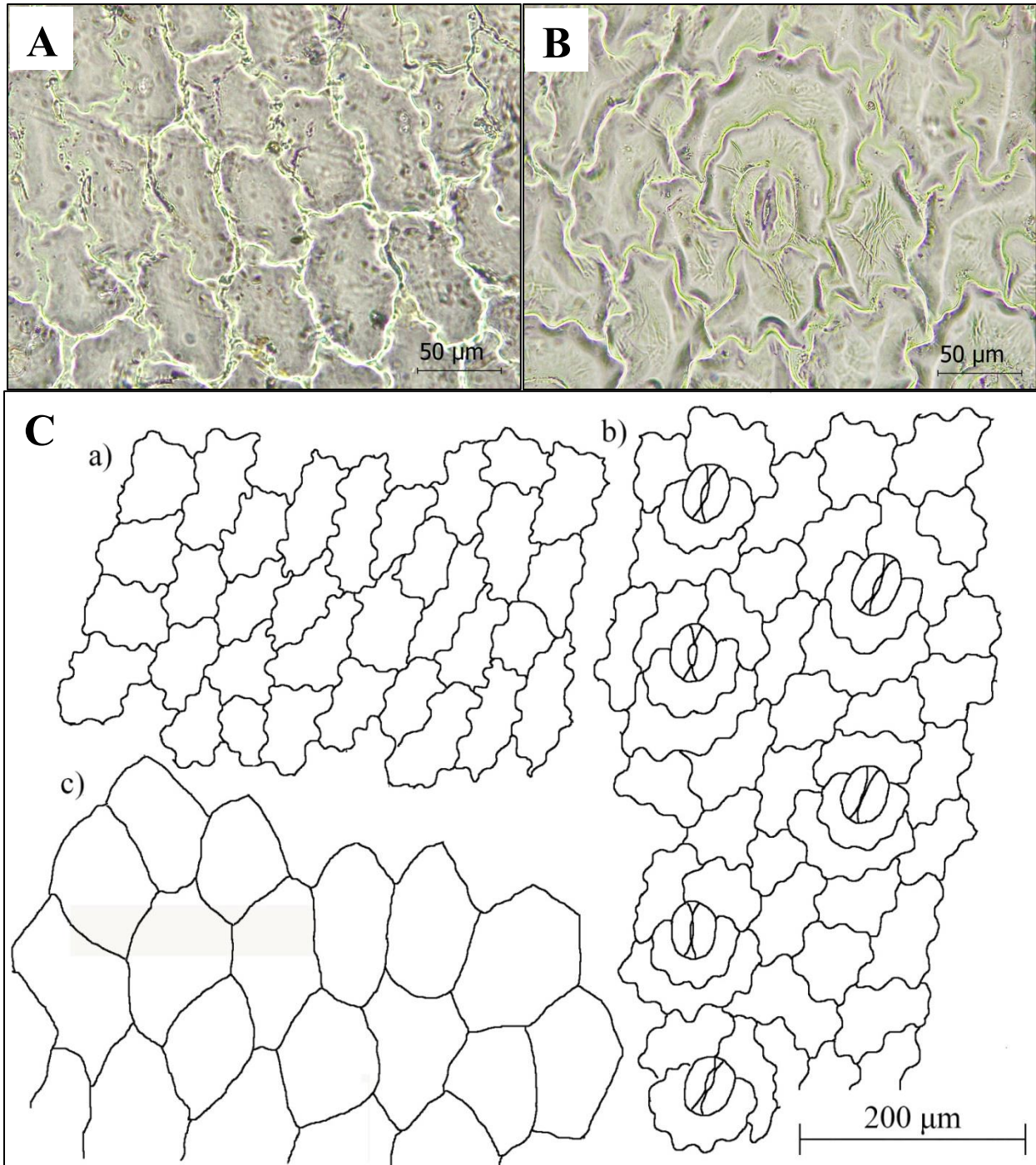


Figura 21. Epidermis *Elaphoglossum peltatum*. A, B. Desprendimiento de cutícula de la hoja estéril. A. Superficie adaxial, se observan células epidermis de contorno sinuoso con ondas de poca profundidad. B. Superficie abaxial, se aprecian células epidérmicas de contorno sinuoso con ondas poco profundas y estomas copolocíticos. C. Modelos epidérmicos a) superficie adaxial de la hoja estéril b) superficie abaxial de la hoja estéril y c) superficie adaxial de la hoja fértil.

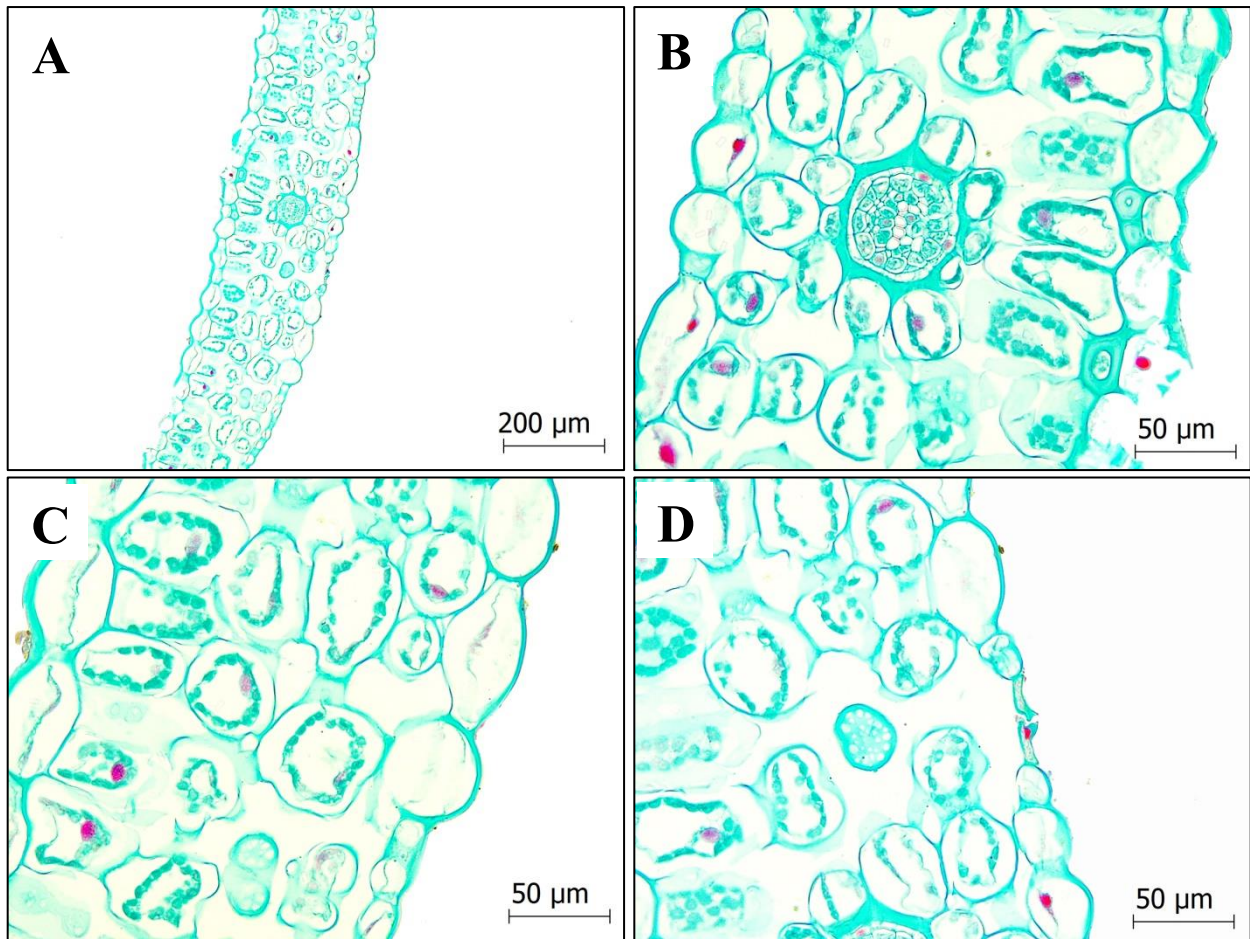


Figura 22. Cortes histológicos transversales de la hoja estéril de *Elaphoglossum peltatum*. A. Panorámica de la lámina, se aprecian la epidermis, mesófilo diferenciado y sistema vascular. B. Detalle de la lámina a nivel de la nervadura, se aprecia el haz vascular con xilema, floema y endodermis, rodeado por la banda circumendodermal, mesófilo con parénquima en empalizada y esponjoso, epidermis adaxial y abaxial. C. Acercamiento a la epidermis y el mesófilo con parénquima en empalizada y esponjoso. D. Acercamiento a un estoma en la epidermis abaxial y parénquima esponjoso.

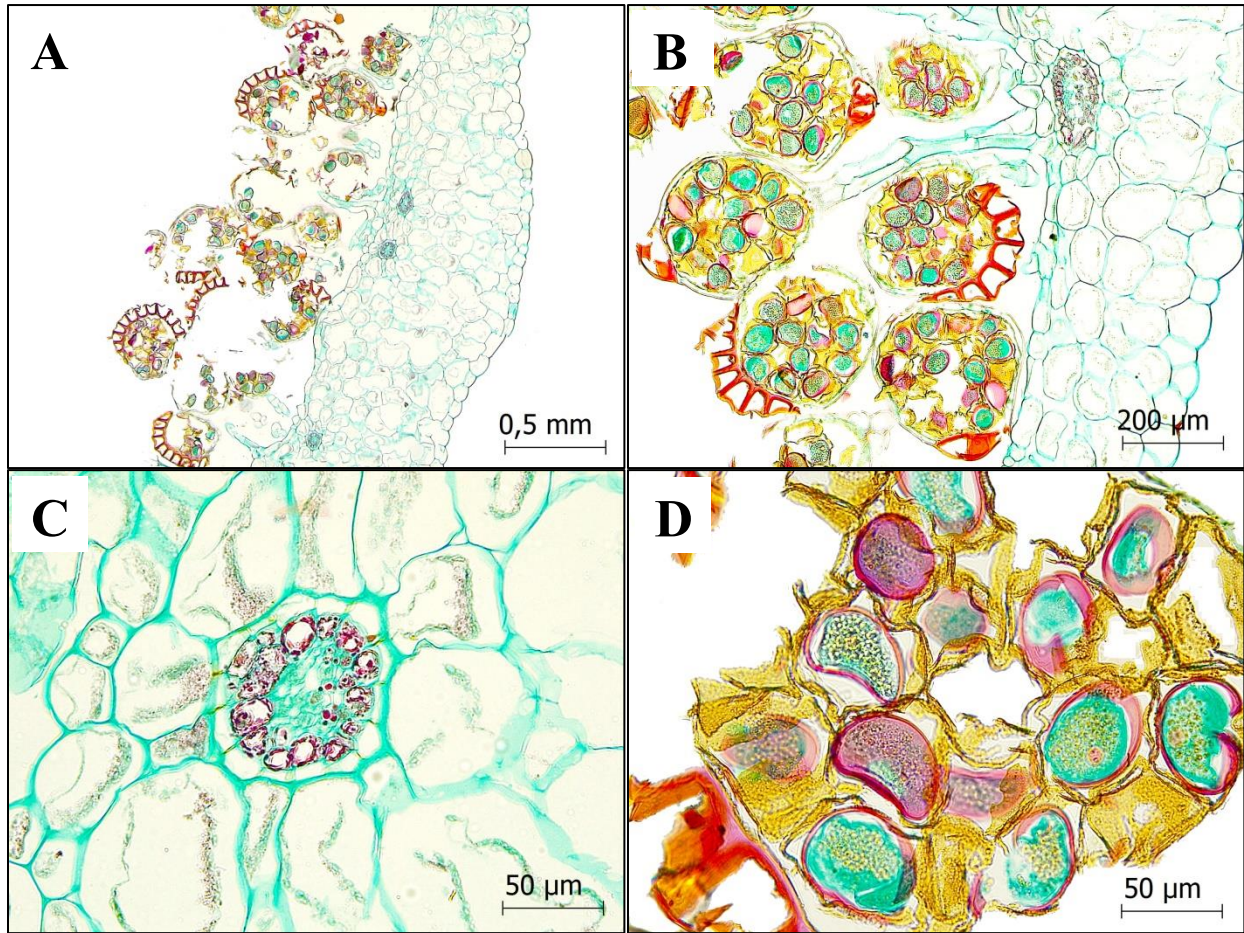


Figura 23. Cortes histológicos transversales de la hoja fértil de *Elaphoglossum peltatum*. A. Vista panorámica de la lámina, se observan la epidermis abaxial y adaxial, el mesófilo con parénquima esponjoso y los esporangios. B. Acercamiento de la lámina, se distingue la epidermis, mesófilo con parénquima esponjoso y esporangios con anillo vertical y esporas en su interior. C. Nervadura de la hoja, se observa el xilema, floema, periciclo, endodermis y una vaina del haz con engrosamientos de su pared periclinal interna. D. Acercamiento de las esporas.

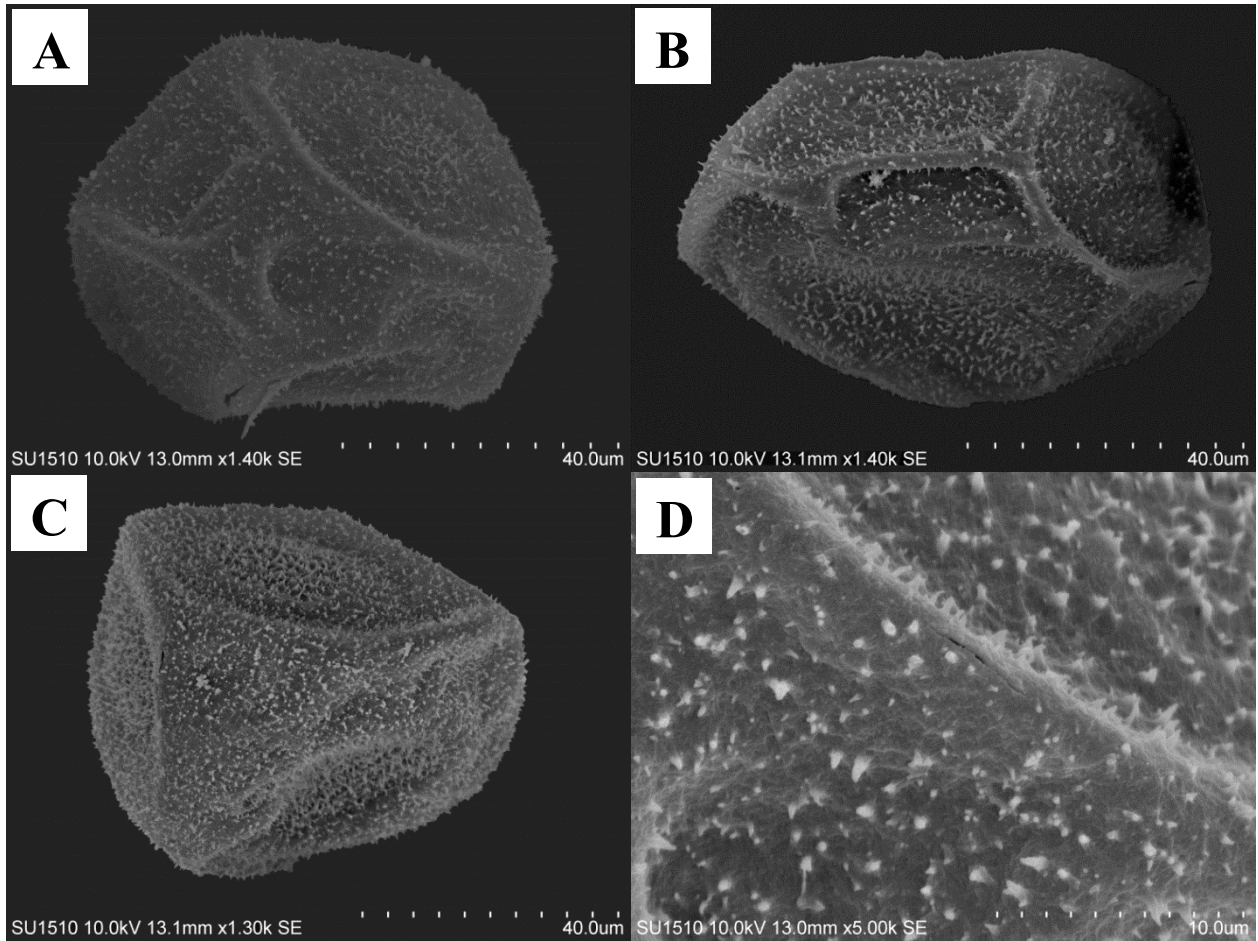


Figura 24. Esporas monoletes, elipsoidales de *Elaphoglossum peltatum*. A. Vista ecuatorial. B. Vista proximal. C. Vista distal. D. Acercamiento del perisporio.

Polystichum mickelii

Morfología de la hoja

Hojas: Monomórficas, de 54.5- 96 cm de longitud. **Pecíolo:** Más corto que la lámina, de 24.5-37 cm de longitud, castaño oscuro, densamente escamoso. **Lámina:** De 30-64 x 18-28 cm en la parte media, 2- pinnada, ovado-lanceolada; pinnas opuestas en la base a subopuestas o alternas en la parte media y ápice de la lámina, de 28-42 pares, cortamente pediculadas, pinnas basales más pequeñas que las pinnas medias; pínulas lanceoladas, cortamente pediculadas, opuestas en la base a subopuestas en la parte media, con un lóbulo basal acroscópico, las basales acroscópicas ligeramente más grandes que el resto; margen entero en el lado basiscópico de los segmentos y en el lado acroscópico crenado en la base a serrado-espinoso; raquis y costas escamosos, surcos adaxiales escamosos; nervaduras escamosas; soros discretos, en la superficie abaxial, redondeados, mediales; sin indusio (Cuadro 9 y Figura 25A-F).

Cuadro 9. Medidas de las hojas de los ejemplares herborizados de *P. mickelii*.

Diámetro del pecíolo (mm)	Número de pinnas	Largo de la hoja (cm)	Largo del pecíolo (cm)	Largo de la lámina (cm)	Ancho de la lámina			Largo de las pinnas			Ancho de las pinnas		
					Base (cm)	Parte media (cm)	Ápice (cm)	Basales (cm)	Medias (cm)	Apicales (cm)	Basales (cm)	Medias (cm)	Apicales (cm)
3-(5)-6	28-(34)-42	54.5-(77.6)-96	24.5-(29.7)-37	30-(47.8)-64	8-(14)-21	18-(21.3)-28	1.5-(1.8)-2	4.5-(8.2)-12.2	8.5-(11.9)-16.5	0.9-(1.3)-2	1.3-(2)-2.5	1.8-(2.2)-2.8	0.4-(0.6)-1

Patrón de venación: Pínulas con venas libres, conspicuas, la vena primaria ligeramente más gruesa que las secundarias, simple o una vez bifurcada, venas estériles terminando cerca del margen, venas fértiles terminan al llegar al receptáculo del soro (Figuras 25D, F y 29A).

Indumento: El pecíolo y raquis exhiben una gran diversidad de formas y tamaños de escamas, las hay desde linerares y lanceoladas, hasta deltadas y arcniformes, clatradas, concoloras o bicoloras, pardo oscuro, pardo claro y pardo, la mayoría son basifijas, pero también las hay peltadas, por lo regular los márgenes son ciliados pero los hay eroso-denticulados y enteros. Generalmente las escamas de la parte proximal del pecíolo son lanceoladas u ovado-lanceoladas, pardo oscuras en el centro con pardo claro en los márgenes, mientras que en la parte distal del pecíolo y el raquis, las escamas son linear-lanceoladas y deltadas con ápices largamente acuminados, concoloras, pardo claro. En las costas únicamente se presentan escamas lineares, pardo claro (Cuadro 10 y Figura 25A-D y E).

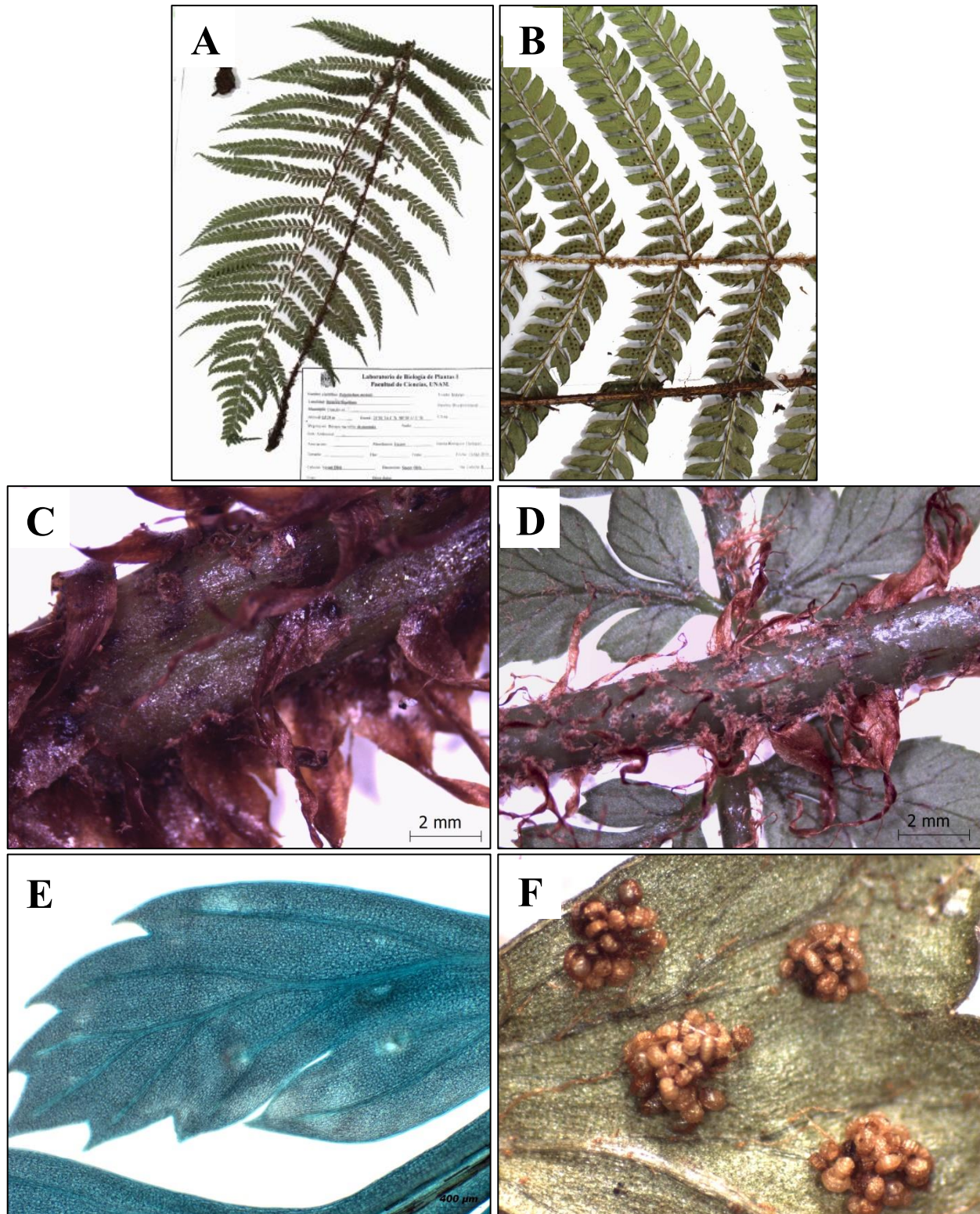

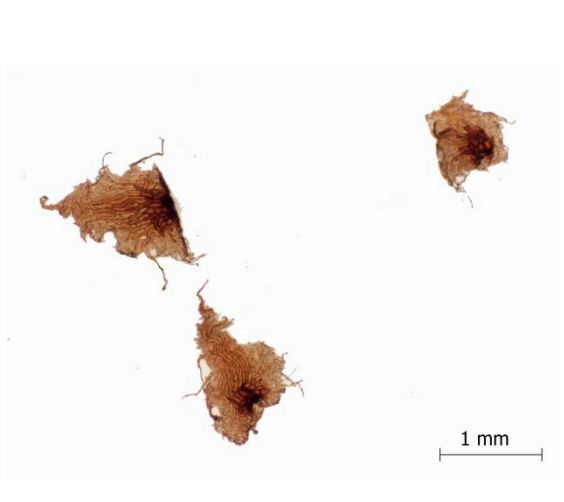


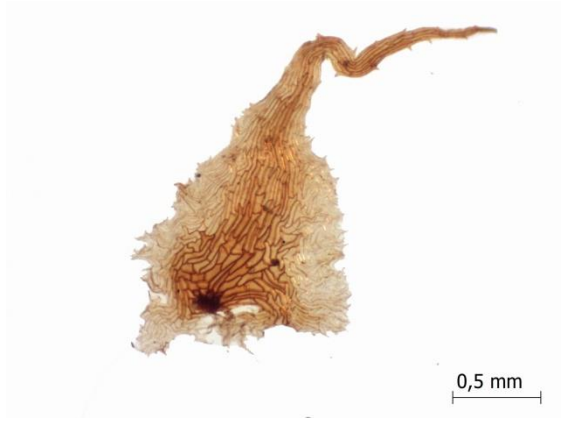
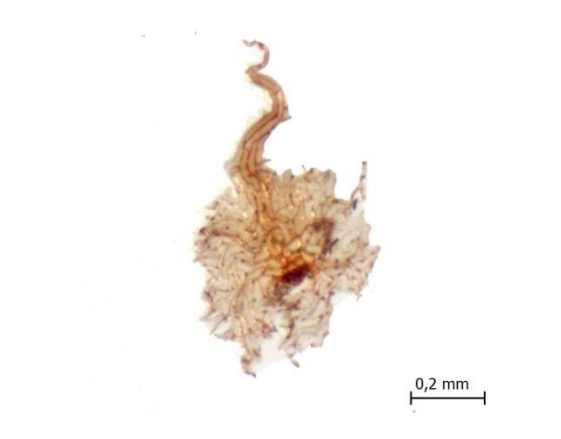
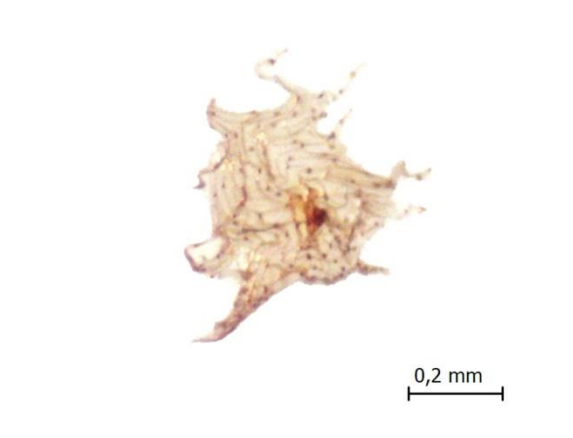







Figura 25. *Polystichum mickelii*. A, B. Ejemplares herborizados. A. Ejemplar completo con rizoma, pecíolo y lámina. B. Acercamiento a la lámina. C. Escamas lanceoladas, pardo oscuro en la base del pecíolo. D. Escamas lanceoladas, deltadas y aracniformes en el raquis. E. Aclarado de pinna, margen entero en la base a serrado-espinoso en el ápice y venación simple, bifurcada. F. Acercamiento de los soros, se aprecian los esporangios.

Cuadro 10. Indumento del pecíolo y raquis de *Polystichum mickelii*.

Descripción de la escama	Tamaño	Imagen
Parte proximal del pecíolo		
<p>Lanceoladas a ovado-lanceoladas, con ápice acuminado, clatradas, bicoloras, con una banda pardo oscuro en el centro y los márgenes pardo claro, basifijas, con margen ciliado a eroso- denticulado.</p>	<p>10-17 x 1.5-3 mm</p>	
<p>Deltado-aracniformes, clatradas, bicoloras, pardo oscuro en el centro y pardo claro en los márgenes, basifijas, margen con cilios largos.</p>	<p>0.7-1.5 x 0.5-1.5 mm</p>	
Parte distal del pecíolo		
<p>Lanceolada a ovado-lanceoladas, clatradas, bicoloras, pardo oscuro en el centro y el margen pardo claro, basifijas, margen entero, eroso-denticulado, algunas con cilios largos en la base.</p>	<p>5.8-17 x 1.2-3 mm</p>	

<p>Linear-lanceoladas, con ápice largamente acuminado, bicoloras, pardo claro en el centro con el margen pardo, basifijas, margen con cilios cortos en la base a erosivo-denticulado en el ápice.</p>	<p>9-11 x 1-1.5 mm</p>	
<p>Deltadas, con ápice acuminado, clatradas, bicoloras, pardo claro en el centro y margen pardo, basifijas, margen cortamente ciliado a erosivo-denticulado.</p>	<p>2.4-4 x 0.8-1.3 mm</p>	
<p>Deltadas con ápice largamente acuminado, clatradas, concoloras, pardo, basifijas, margen con cilios largos.</p>	<p>0.7-1.2 x 0.5-0.6 mm</p>	

<p>Aracniformes, algunas con ápice acuminado, concoloras, pardo claro, peltadas, margen con cilios largos.</p>	<p>0.5 x 0.3-0.5</p>	
<p>Linear-lanceoladas, con ápice acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo claro, basifias, margen con cilios largos en la base a erosivo-denticulado en el ápice.</p>	<p>2.5-3.5 x 0.4-0.6</p>	
<p>Raquis</p>		
<p>Lanceoladas a ovado-lanceoladas, con ápice acuminado, clatradas, bicoloras, pardo claro en el centro con los márgenes pardo, basifijas, margen con cilios cortos a erosivo-denticulado.</p>	<p>4.5- 10 x 0.8-1.6 mm</p>	

<p>Lineares a linear-lanceoladas, con ápice largamente acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo claro, basifijas, margen ciliado a eroso-denticulado.</p>	<p>3-10 x 0.3-1 mm</p>	
<p>Aracniformes a deltado-aracniformes, ápice largamente acuminado, clatradas, concoloras, pardo claro, basifijas, con margen ciliado en la base a eroso-denticulado en el ápice.</p>	<p>1-2 x 0.4-1 mm</p>	
<p>Costas</p>		
<p>Lineares a linear-lanceoladas, con ápice largamente acuminado, fibrilosas, concoloras, pardo claro, basifijas, margen ciliado a eroso-denticulado.</p>	<p>2.5-3 x 0.4-0.6 mm</p>	

Anatomía de la hoja

Pecíolo y raquis: En corte transversal el pecíolo es ligeramente cuadrado en la base y con forma de “V” en la parte apical del raquis, con un surco adaxial que comienza en el pecíolo y se extiende hacia la parte apical del raquis (Figura 26A-D).

Cutícula delgada y lisa. Epidermis simple, con células de pared engrosada, forma isodiamétrica y con contenido oscuro en su lumen (Figura 27D).

Córtex formado por colénquima y parénquima, el promedio de las medidas polares es de 610-713 μm en la base del pecíolo y de 170-385 μm en el raquis. Las células del colénquima son isodiamétricas a poligonales, con paredes engrosadas, contenido oscuro en su lumen y sin espacios celulares entre ellas; en la base del pecíolo está constituido de 13-18 estratos, mientras en el raquis se observan entre cinco y 11 estratos. Presentan dos sitios en los que se interrumpe el colénquima y se encuentran células de parénquima pequeñas. Subyacentes a las células de colénquima, se presenta el parénquima compuesto por células grandes, isodiamétricas, de paredes delgadas y espacios intercelulares pequeños. La medula está compuesta por parénquima de células muy grandes de forma irregular, de paredes celulares delgadas, contenido oscuro en su lumen y espacios intercelulares pequeños (Figura 27A-D).

El sistema vascular está compuesto por un estele de tipo polistélico, en el que se observan haces vasculares anficribales, circulares, arreglados en forma de arco, los 2 haces de mayor tamaño se encuentran hacia la cara adaxial y entre ellos los pequeños. El número de haces vasculares varía a lo largo del pecíolo y raquis pero en general tiende a reducirse hacia el raquis, en la base, parte media del pecíolo y base del raquis hay entre siete y cinco haces, en la parte media raquis se presentan cinco o seis haces, mientras que en la parte apical hay entre dos y tres haces (Figura 26).

Los haces vasculares están rodeados por la banda circumendodermal que consta de un estrato de células de diferentes tamaños y formas, con engrosamientos color pardo oscuro, en su pared periclinal interna que se extienden a las paredes anticlinales en forma de “U”. La endodermis está formada por una sola capa de células pequeñas rectangulares, con paredes radiales ligeramente engrosadas y contenido oscuro en su lumen. El periciclo está compuesto de dos a tres capas de células, algunas con contenido oscuro en su lumen. En los haces de mayor tamaño el xilema se arregla en forma de hipocampo, mientras que los haces de menor tamaño tiene forma alargada. El floema está compuesto por células pequeñas, con paredes delgadas, unas pocas con contenido oscuro en su lumen (Figura 27E, F).

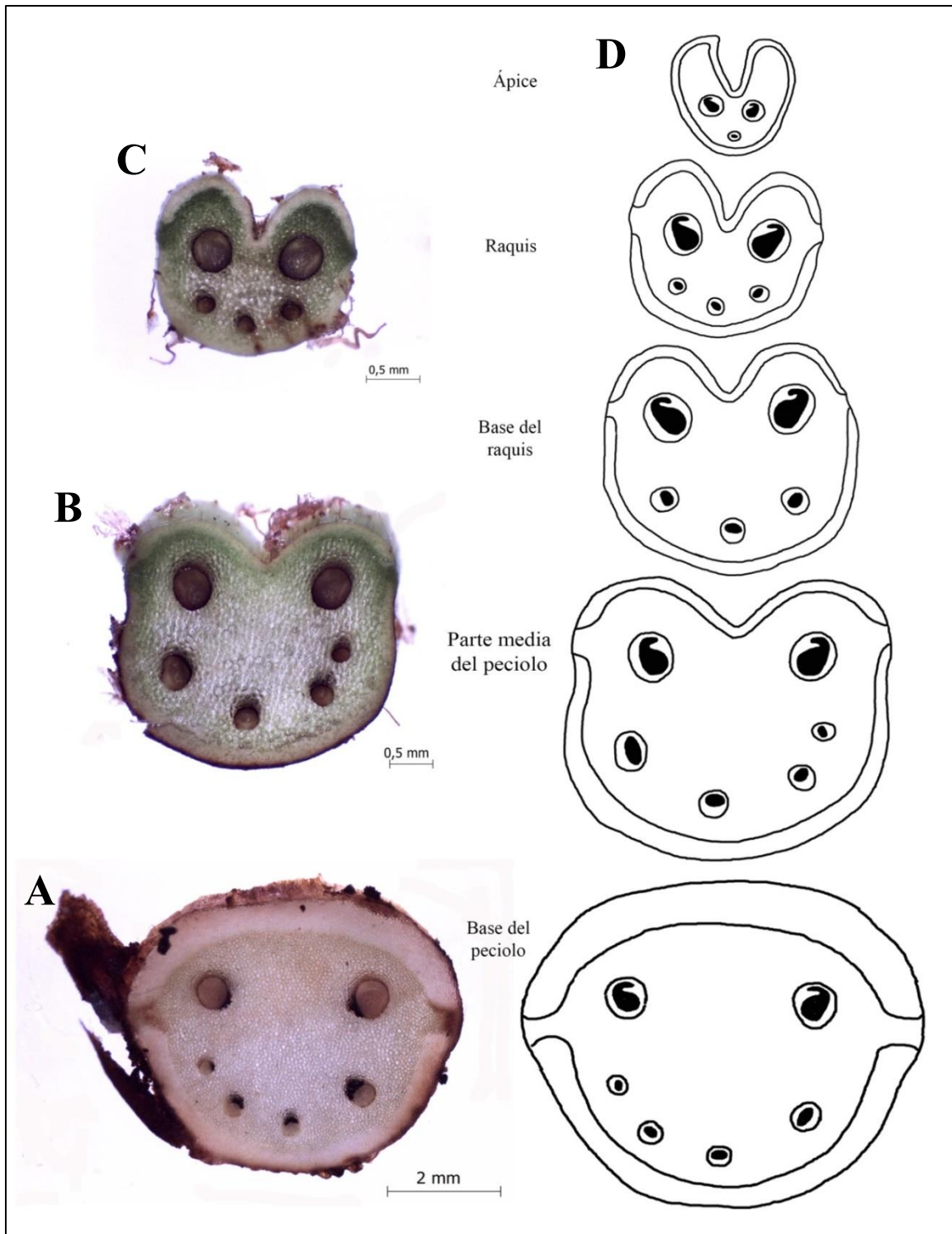


Figura 26. Sistema vascular en el peciolo y raquis de *Polystichum mickelii*. A- C. Cortes frescos transversales de peciolo y raquis. A. Base del peciolo con seis haces vasculares, rodeados por la banda circumendodermal. B. Parte media del peciolo con seis haces vasculares. C. Raquis con cinco haces. D. Diagrama del sistema vascular del peciolo y raquis, en donde se muestra una reducción en el número de haces vasculares hacia la parte distal del raquis, los haces arreglados en forma de arco y con xilema en hipocampo.

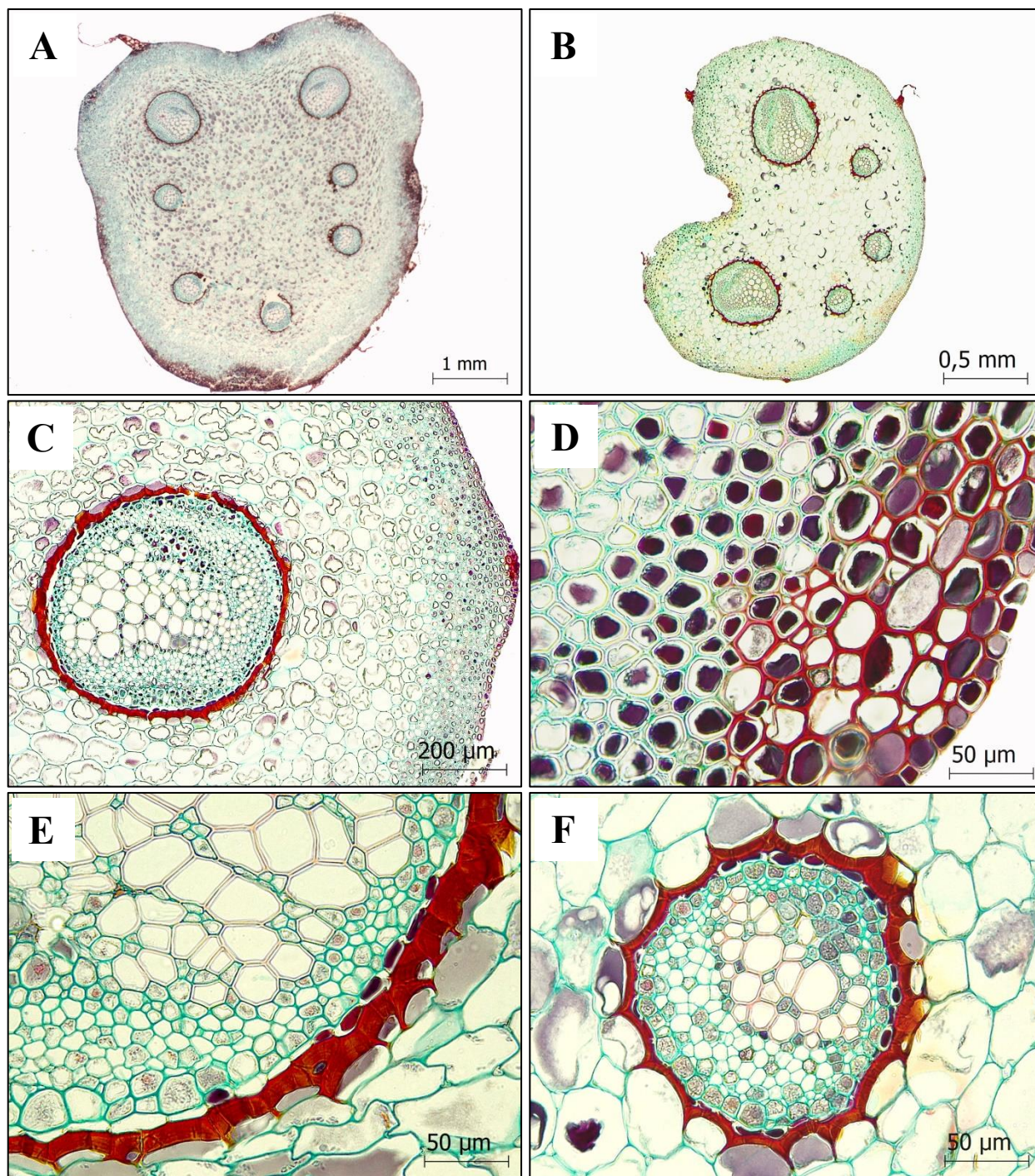


Figura 27. Cortes histológicos transversales de pecíolo y raquis de *Polystichum mickelii*. A. Base del pecíolo, donde se observa el córtex formado por colénquima y parénquima y el sistema vascular con siete haces vasculares. B. Raquis, se aprecian el córtex y el sistema vascular. C. Base del raquis, córtex formado por colénquima y parénquima y el haz vascular formado por xilema en hipocampo, floema, periciclo y endodermis, rodeado por la banda circundodermal con depósitos de taninos. D. Base del pecíolo, epidermis uniestratificada con células engrosadas, y colénquima. E. Base del pecíolo, detalle del haz vascular mayor en donde se observa el xilema, floema, periciclo, endodermis con células con contenido oscuro y la banda circundodermal con depósitos de taninos. F. Haz vascular menor en el raquis, formado por xilema, floema, periciclo, endodermis con células con contenido oscuro en su lumen y la banda circundodermal con depósitos de taninos.

Lámina: En vista superficial el modelo epidérmico adaxial muestra células alargadas cuyos radios celulares van de 2.5-4.5:1, el tamaño promedio de las células es de 120 x 35 μm , su contorno es sinuoso, con ondas de amplitud variable, distribuidas irregularmente y poca profundidad. La superficie abaxial con células de forma variable, la mayoría alargadas, con radios celulares de 2-4:1, el tamaño promedio es de 103 x 40 μm , su contorno es sinuoso, con ondas frecuentes, de amplitud y profundidad variable (Figura 28A-C).

Estomas en la superficie abaxial de las pínulas, presentan una densidad promedio de 62 estomas por mm^2 , el tamaño promedio de las células oclusivas es de 51 μm ; las células oclusivas se encuentran rodeadas por dos, tres, cuatro o cinco células subsidiarias, por lo que los tipos de estomas presentes son diacítico, anisocítico, tetracítico y anomocítico, los porcentajes de cada tipo de estoma son: 56.9% para el tipo anisocítico, 20.7% para el tetracítico, 14.3% para el anomocítico y 8.1% para el tipo diacítico (Figura 28B-C).

Los cortes transversales de las pínulas exhiben una epidermis simple con cutícula delgada, sus células tienen paredes celulares delgadas y no presentan cristales; en la superficie adaxial las células son grandes e isodiamétricas, mientras que las de la superficie abaxial son de menor tamaño con respecto a las células de la superficie adaxial e isodiamétricas, los estomas se localizan al mismo nivel de la epidermis (Figura 29C-E).

El mesófilo está formado por una o dos capas de células de parénquima en empalizada, sus células son pequeñas y con abundantes cloroplastos que se localizan en la periferia del protoplasto, y entre cuatro y cinco capas de parénquima esponjoso, con células de distintos tamaños, de forma isodiamétrica, espacios intercelulares amplios y pocos cloroplastos. A nivel del haz vascular, debajo de la epidermis abaxial se presentan tres capas de células con paredes engrosadas (Figura 29C-E).

Los haces vasculares tienen un arreglo similar al de los haces vasculares de menor tamaño del pecíolo y raquis, presentan una vaina del haz con células isodiamétricas de diferente tamaño, sin engrosamientos en sus paredes celulares; endodermis con células rectangulares y contenido oscuro en su lumen celular; periciclo de una sola capa de células irregulares, algunas con contenido oscuro en su lumen; floema y xilema (Figura 29C-E).

Estructuras reproductoras: Los aclarados de las pinnas muestran que los soros mediales a supramediales y se localizan en la parte terminal de las venas; los esporangios tienen un anillo vertical. En corte transversal el soro es exindusiado, con receptáculo plano, de una o dos capas de células (Figura 29A, B, E).

Esporas: Monoletes, color pardo, elipsoidales. El tamaño promedio es de 45 x 33 μm ; lesura $\frac{1}{2}$ de la longitud de la espora. Ornamentación del perisporio equinulada, con crestas delgadas y pliegues gruesos, irregulares, muestra numerosas perforaciones de diámetro pequeño, los bordes también equinulados (Figura 30A-D).

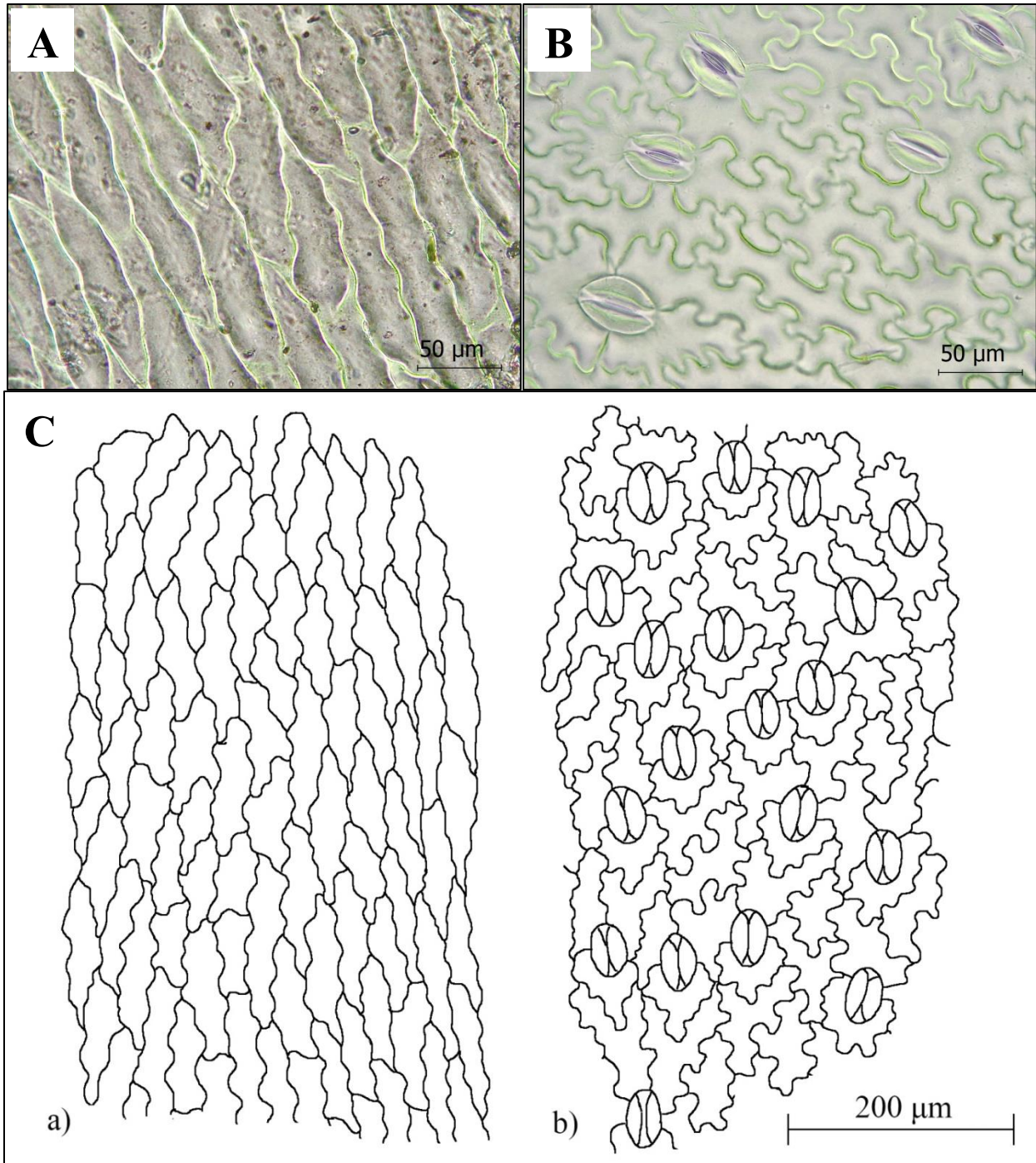


Figura 28. Epidermis de *Polystichum mickelii*. A. Desprendimiento de cutícula superficie adaxial, se observan células epidérmicas alargadas de contorno sinuoso y ondas poco profundas B. Desprendimiento de cutícula superficie abaxial, se aprecian células epidérmicas de contorno sinuoso con ondas variables y estomas anisocíticos. C. Modelo epidérmico a) superficie adaxial y b) superficie abaxial.

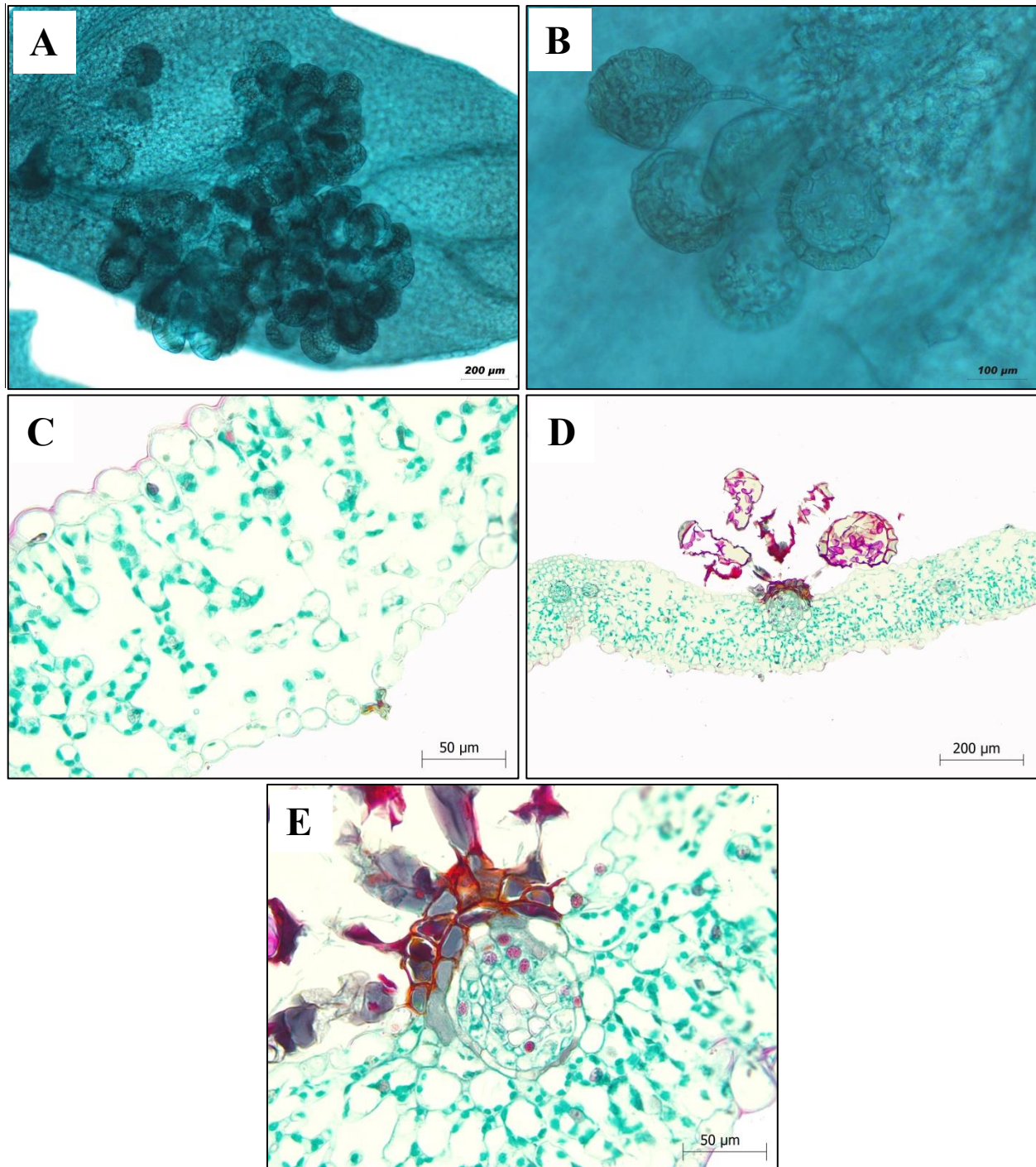


Figura 29. Lámina de *Polystichum mickelii*. A, B. Aclarados de pínula con soros. A. Soro redondeado en la parte terminal de la vena y venación simple, bifurcada. B. Esporangios con anillo vertical y esporas en su interior. C-E. Cortes histológicos transversales de pínula. C. Epidermis adaxial, estoma en la epidermis abaxial y mesófilo con parénquima en empalizada y esponjoso. D. Panorámica de la lámina con soro. E. Acercamiento al nivel del soro, se aprecia el mesófilo, la nervadura con xilema, floema y endodermis y soro con un receptáculo plano, de pocas células, sin indusio.

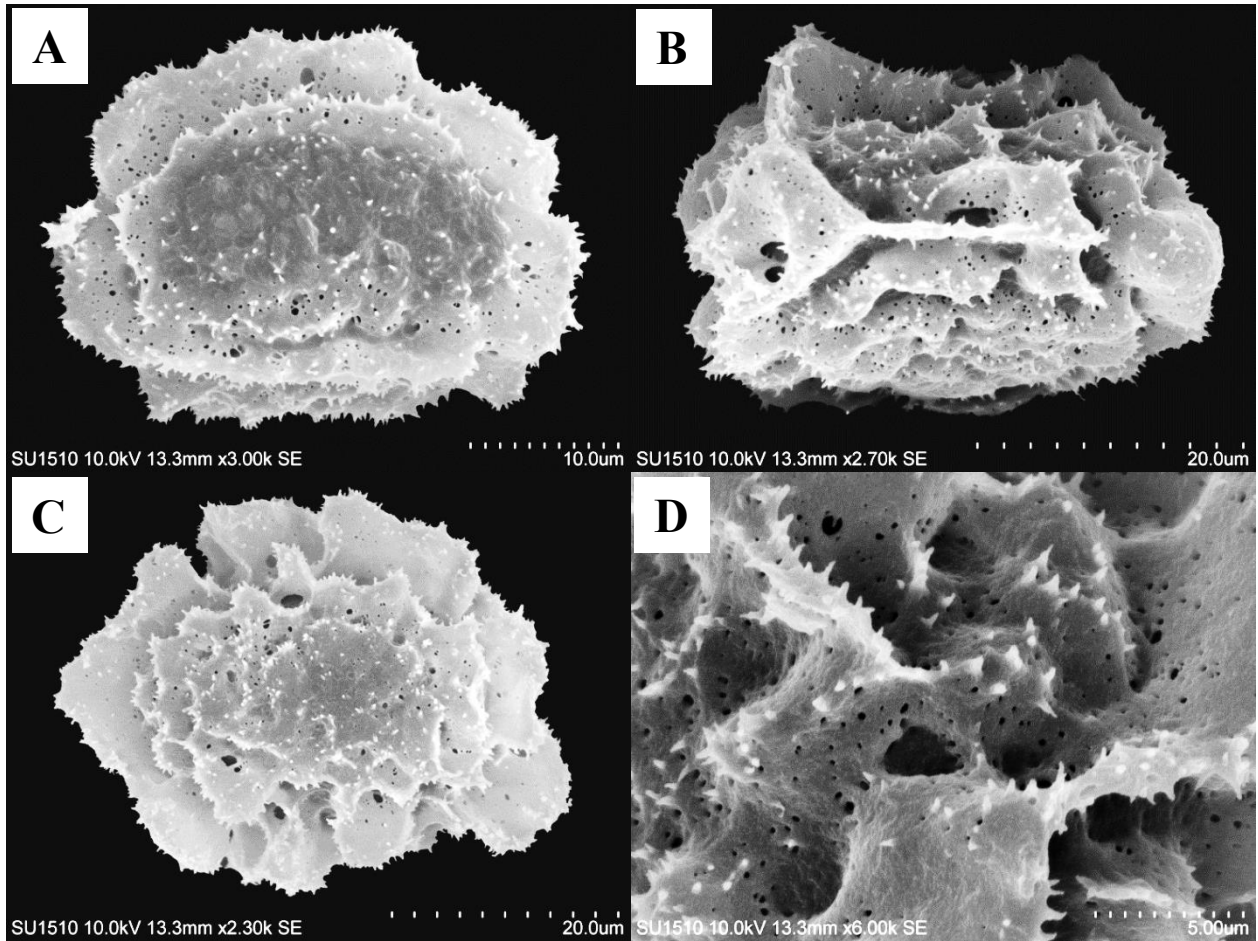


Figura 30. Esporas monoletes, elipsoidales de *Polystichum mickelii*. A. Vista ecuatorial. B. Vista proximal. C. Vista distal. D. Acercamiento del perisporio.

Análisis morfológico de las hojas

El análisis de la matriz básica de datos sobre las medidas de las hojas, proporcionó un dendograma que reflejó el grado de similitud de la forma y tamaño de las hojas entre las cuatro especies estudiadas.

En el dendograma con los 48 ejemplares medidos correspondientes a las cuatro especies estudiadas, se consideró una distancia euclidiana de 1.52 para determinar a los grupos con características morfológicas similares y se definieron tres grupos: el grupo I formado por las hojas de *E. peltatum*; el grupo II formado por los subgrupos que corresponden con los ejemplares de *D. wallichiana* y *P. mickelii*; y por último, el grupo III conformado por los ejemplares de *A. denticulata* (Figura 31).

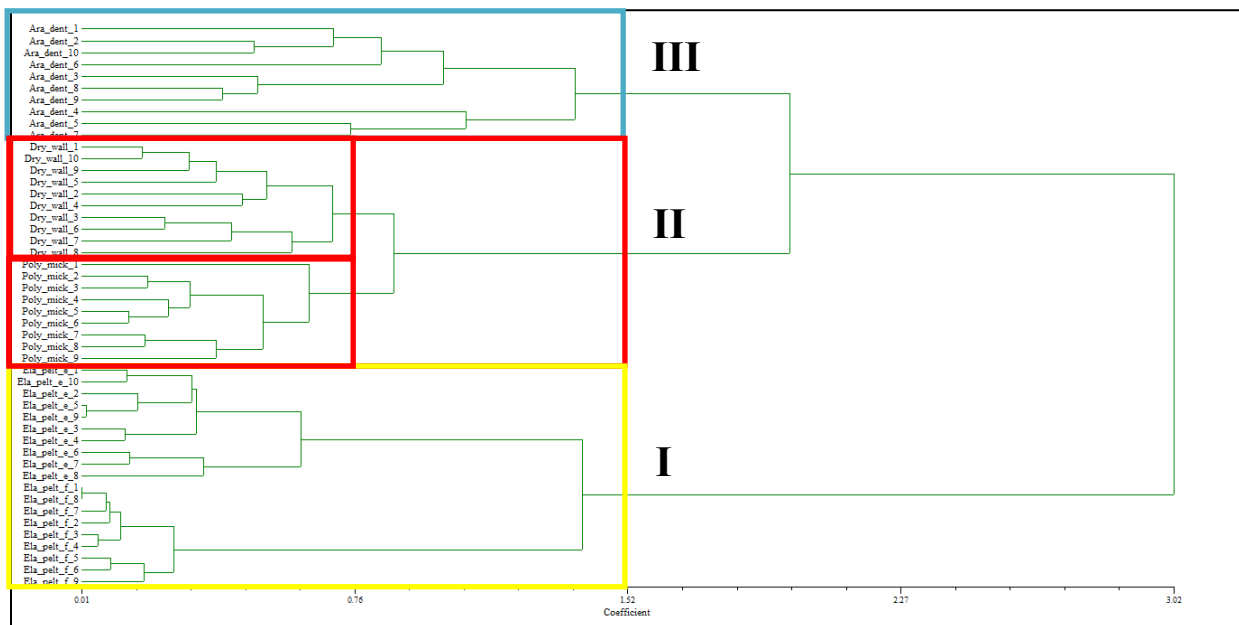


Figura 31. Dendograma que muestra el grado de similitud entre el tamaño y la forma de la hoja de las cuatro especies estudiadas. Amarillo: Grupo I formado por *E. peltatum*. Rojo: Grupo II compuesto por *D. wallichiana* y *P. mickelii*. Azul: Grupo I formado por *A. denticulata*.

Como se observa en el dendograma al grupo I lo conforman tanto las hojas fértiles como las hojas estériles de los ejemplares de *E. peltatum*, es la especie que morfológicamente presenta las hojas más diferentes en tamaño y forma, los caracteres que podrían explicar estas diferencias son el largo de la hoja, así como el largo del pecíolo y de la lámina, debido a que las hojas de esta especie son pequeñas, con pecíolos y láminas cortos (Figura 31).

El grupo II lo componen los subgrupos de *P. mickelii* y *D. wallichiana*, y demuestra las semejanzas morfológicas en la forma y tamaño de las hojas de estas especies. Este grupo puede estar definido por los caracteres del ancho de la parte media de la lámina y el largo de las pinnas

medias, y concuerda con la forma de la hoja observada en estas especies, ya que ambas tienen hojas ovado-lanceoladas o elípticas, en donde la parte media es más ancha que la parte basal y la parte apical. Los ejemplares de cada especie se encuentran bien delimitados formando dos subgrupos que corresponden a las dos especies, posiblemente los caracteres que discriminan entre las dos especies son el ancho de las pinnas basales y el ancho de las pinnas medias, las cuales son ligeramente más grandes en *P. mickelii* que en *D. wallichiana* (Figura 31).

Por último, el grupo III está formado por los ejemplares de *A. denticulata*, y que con base en el dendograma las hojas de este grupo tienen más semejanzas con las hojas de *P. mickelii* y *D. wallichiana* que con las de *E. peltatum*. El carácter que podría explicar mejor a este grupo es el ancho de las pinnas basales, ya que los ejemplares de esta especie presentan pinnas basales más anchas, debido a que tienen pínulas basales basiscópicas más largas que el resto, lo que le da la forma deltada o pentagonal a la hoja (Figura 31).

Análisis molecular

La alineación de las tres secuencias del cloroplasto (*rbcL*, *psbA-trnH* y *trnL-F*) para las cuatro especies se analizó mediante el Método Bayesiano, el cladograma obtenido mostró buen soporte al manejar valores de 0.8 a 1 y una desviación estándar de 0.002.

En el cladograma inferido se aprecian dos clados bien definidos, que son: A) el clado comprendido por las especies *E. peltatum* y *E. yoshinagae*; y B) el clado que comprende a las especies *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana* y a las especies del género *Polystichum*, *P. mickelii* y *P. braunii* como su grupo hermano (Figura 32).

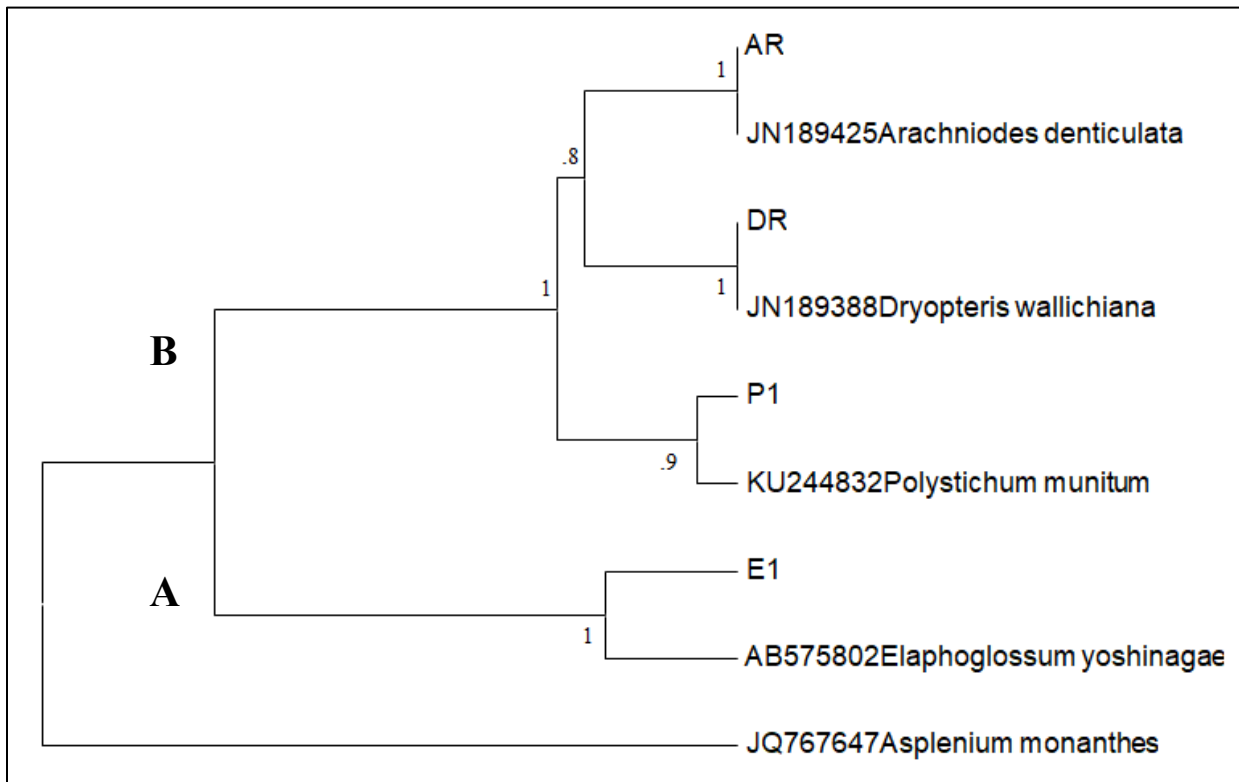


Figura 32. Árbol filogenético de las cuatro especies de Dryopteridaceae estudiadas en esta tesis, inferido mediante el Método Bayesiano. El clado **A** está compuesto por *Elaphoglossum peltatum* y *E. yoshinagae*; mientras que el clado **B** lo conforman *A. denticulata*, *D. wallichiana*, *Polystichum mickelii* y *P. braunii*. AR= *Arachniodes denticulata*, DR= *Dryopteris wallichiana*, P1= *Polystichum mickelii* y E1= *Elaphoglossum peltatum*. Con base en el trabajo de Smith *et al.* (2006) se eligió a *Asplenium monanthes* como grupo externo.

Análisis de Resultados

Morfología de la hoja

El tamaño de las hojas varía entre las cuatro especies, los ejemplares más pequeños son los de *Elaphoglossum peltatum* cuyas hojas miden entre 4 y 10.5 cm de largo, mientras que las hojas de mayor tamaño las presenta *Dryopteris wallichiana* con entre 46 y 103 cm de longitud. Las hojas monomórficas se presentan en *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii*; en *A. denticulata* las hojas son deltadas a pentagonales, 2-4-pinnadas, las pinnas más grandes se encuentran en la parte proximal de la lámina, generalmente las pínulas basiscópicas de las pinnas basales son más grandes que el resto, lo que le da la forma pentagonal a la fronda, el pecíolo suele ser del mismo tamaño que la lámina. En *D. wallichiana* y *P. mickelii* la forma de sus hojas es lanceolada-elíptica y generalmente el pecíolo es más corto que la lámina, las pinnas más grandes se encuentran en la parte media de la fronda; en *D. wallichiana* la hoja es 1-pinnado-pinnatifida algunas veces 2-pinnada en las pinnas más grandes, mientras que en *P. mickelii* es 2-pinnada. En *E. peltatum* las hojas son dimórficas, por lo que las hojas estériles son flabeladas, hasta 6 veces dividida y las hojas fértiles son pequeñas, lobadas, generalmente más largas que las estériles (Cuadro 11).

El soro es discreto y redondeado en *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii*, los dos primeros presentan indusio reniforme, en *D. wallichiana* es persistente, pero en *A. denticulata* puede ser caedizo, mientras que en *P. mickelii* no se presenta indusio. *E. peltatum* es la única especie que muestra un soro acrosticoide, es decir, que los esporangios están presentes en toda la superficie abaxial de la lámina fértil (Cuadro 11).

Las cuatro especies muestran un patrón de venación libre, con venas conspicuas, que terminan cerca del margen, la vena media es ligeramente más gruesa que las secundarias. La vena media es simple y se divide dicotómicamente en *E. peltatum*, mientras que en *A. denticulata* y *P. mickelii* las venas secundarias son simples y bifurcadas una vez, y en *D. wallichiana* son dos o tres veces bifurcadas (Cuadro 11). En las pínulas fértiles, las venas terminan en el receptáculo del soro en *A. denticulata* y *P. mickelii*, entre la cóstula y el margen, mientras que en *D. wallichiana* las venas continúan hasta cerca del margen.

El indumento es diferente en cada una de las especies por su forma, color y tamaño de las escamas. *E. peltatum* presenta escamas pequeñas, de 1.2-1.8 x 0.6-0.8 mm, deltadas, peltadas, fibrilosas, concoloras, pardo claro-amarillentas que se distribuyen esparcidamente en el pecíolo de ambas hojas y en la superficie abaxial de la lámina estéril. El resto de las especies generalmente tienen escamas ovado-lanceoladas a lineares, grandes de 4-22 x 0.8-4 mm, y pequeñas de 0.5-5.5 x 0.1-1 mm; en el caso de *P. mickelii* también se presentan escamas deltadas o aracniformes, pequeñas de 0.5-2.4 x 0.3-1.5 mm. En *A. denticulata* se distribuyen únicamente en la base del pecíolo, pero que en *D. wallichiana* y *P. mickelii* se encuentran en el pecíolo, raquis, costas y superficie abaxial de la lámina. *A. denticulata* y *D. wallichiana* muestran escamas

similares al ser fibrilosas, basifijas, concoloras rojizas, pardo oscuro o pardas, sin embargo la mayoría de las escamas de *D. wallichiana* tienen células con contenido oscuro en su lumen lo que les da la apariencia de ser bicoloras. Las escamas de *P. mickelii* son las que presentan mayor diversidad de formas, son clatradas, concoloras pardo claro, o bicoloras pardo oscuro con pardo claro, la mayoría basifijas, pero también las hay peltadas (Cuadro 11).

Cuadro 11. Caracteres morfológicos de la hoja

	<i>A. denticulata</i>	<i>D. wallichiana</i>	<i>E. peltatum</i>		<i>P. mickelii</i>
Tipo de hoja	Monomórfica	Monomórfica	Dimórfica		Monomórfica
Tamaño de la hoja	17.2-(27.7)-43.5 x 5.5-(13)-19	46-(75.5)-103 x 14-(21.2)-28 cm	Hoja estéril: 4-(7.4)-10.4 x 2.1-(3.5)-5.3 cm	Hoja fértil: 5-(7.7)-10.2 x 0.7-(1.2)-1.4 cm	54.5-(77.6)-96 x 18-(21.3)-28 cm
Forma de la hoja	Deltada a pentagonal, 2-4 pinnada	Lanceolada o elíptica, 1-pinnado-pinnatifida	Hoja estéril flabelada	Hoja fértil indivisa o dos lobada	Lanceolada o elíptica, 2-pinnada
Tipo de soro	Discreto, redondeado	Discreto, redondeado	Acrosticoide		Discreto, redondeado
Indusio	Presente	Presente, reniforme	Ausente		Ausente
Venación	Simple, bifurcada	Bifurcada	Simple		Simple, bifurcada
Indumento	Escamas lanceoladas o linear-lanceoladas, fibrilosas, concoloras, pardo oscuro, basifijas, con margen ciliado a eroso-denticulado	Escamas lanceoladas, linear-lanceoladas o lineares, fibrilosas, concoloras, algunas presentan células con contenido oscuro en su lumen, basifijas, margen entero, eroso-denticulado o ciliado	Escamas deltadas a ovado-lanceoladas, fibrilosas, pardo claro o amarillentas, peltadas, margen ciliado en la base y eroso-dentado o entero		Escamas lineares, lanceoladas, deltadas y aracniformes, clatradas, concoloras, bicoloras, pardo oscuro-pardo claro, la mayoría basifijas, pero también las hay peltadas, márgenes ciliados, eroso-denticulados y enteros
Tamaño de las escamas	Escamas grandes: 4-10 x 1-2 mm Escamas pequeñas: 3-5.5 x 0.5-0.7 mm	Escamas grandes: 10-22 x 1-4 mm Escamas pequeñas: 0.5-10 x 0.1-1 mm	Escamas pequeñas: 1.2-1.8 x 0.6-0.8 mm		Escamas grandes: 4.5-17 x 0.8-3 mm Escamas pequeñas lineares: 2.5-10 x 0.3-1 mm Escamas pequeñas deltado-aracniformes: 0.5-4 x 0.3-1-5 mm

Anatomía del pecíolo y raquis

Todas las especies tienen una epidermis uniestratificada con cutícula delgada, debajo se presenta el córtex formado por colénquima y parénquima, el mayor número de capas de colénquima se presentan en la base del pecíolo y va disminuyendo hacia el raquis, *Elaphoglossum peltatum* es el que muestra el menor número de capas, entre tres y cinco hileras en la base del pecíolo, y de dos a cuatro en la base de la lámina, mientras que *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii* son los que presentan el mayor número de capas, de 11-18 hileras en la base del pecíolo y de cinco a 11 hileras en el raquis (Cuadro 12).

Al igual que el número de hileras de colénquima, el número de haces vasculares es mayor en la base del pecíolo y se va reduciendo conforme se avanza hacia el raquis en *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii*. La base del pecíolo de *D. wallichiana* muestra el mayor número de haces, entre ocho y 11 cordones, *P. mickelii* tiene entre cinco y siete haces, y por último, *A. denticulata* con cuatro haces. En *E. peltatum* se mantienen dos haces vasculares a lo largo de todo el pecíolo de la hoja estéril, mientras que en la hoja fértil se observan dos haces en la base del pecíolo y aumenta a cuatro haces antes de comenzar la lámina (Cuadro 12).

Todas las especies presentan la banda circumendodermal rodeando los haces vasculares, sin embargo, en *A. denticulata* puede estar ausente en la base del pecíolo. Los depósitos de esta banda son color pardo oscuro en *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii*, pero en *E. peltatum* son de color hialino en la hoja estéril, y de color pardo oscuro a partir de la mitad del pecíolo en la hoja fértil. La endodermis es de una sola capa de células en todas las especies, con engrosamientos en sus paredes radiales. El periciclo puede ser una sola capa de células como en *E. peltatum*, o tener hasta cuatro capas de células como en *D. wallichiana*. El xilema se encuentra rodeado por el floema, las células del protoxilema se ubican en la periferia del metaxilema. En los haces de mayor tamaño de *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii* el xilema presenta un gancho curvado adaxialmente, llamado xilema en hipocampo, mientras que en *E. peltatum* también se presenta aunque no es tan evidente (Cuadro 12).

Únicamente la base del pecíolo de *A. denticulata* presentan células de paredes engrosadas, color pardo oscuro ubicadas en la médula.

Cuadro 12. Caracteres anatómicos del pecíolo.

	<i>A. denticulata</i>	<i>D. wallichiana</i>	<i>E. peltatum</i>		<i>P. mickelii</i>
Número de hileras de colénquima en el córtex	b= 8-11 pm= 3-6 r= 2-4	b=11-15 pm= 9-12 r= 6-10	Hoja estéril b= 3-5 pm= 2-5 bl= 2-4	Hoja fértil b=3-4 pm=1-4 bl=1-3	b= 13-18 pm= 10-14 r= 6-11
Número de haces vasculares	b= 4 pm= 3 br= 1-2 r= 1	b= 8-11 pm 7-8 br= 7-8 pmr= 5 ar=1	Hoja estéril b= 2 pm= 2 bl= 2	Hoja fértil b= 2 pm= 2 bl= 4	b= 5-7 pm= 5-7 br= 5-7 pmr= 5-6 ar= 2-3
Banda circumdodermal	Sí. Puede no presentarse en la base del pecíolo. Depósitos pardo oscuro	Sí. Depósitos pardo oscuro	Sí. Depósitos hialinos	Sí. Depósitos hialinos en la base del pecíolo, pardo oscuro en el resto del pecíolo	Sí. Depósitos pardo oscuro
Periciclo	1-2	1-4	1		1-3
Xilema	Hipocampo	Hipocampo	Hipocampo, poco evidente		Hipocampo

b= base del pecíolo, pm= parte media del pecíolo, bl= base de la lámina, r= raquis, br= base del raquis, pmr= parte media del raquis, ar= ápice del raquis.

Anatomía de la lámina

La epidermis muestra un patrón sinuoso con ondas de distribución, amplitud y profundidad variable en todas las especies estudiadas, además los patrones también difieren entre ambas superficies de la misma lámina; generalmente la epidermis adaxial tiene ondas amplias y de poca profundidad, mientras que la epidermis abaxial presenta células con ondas de menor amplitud y profundidad. El tamaño promedio de las células epidérmicas es mayor en la superficie adaxial que en la superficie abaxial en *D. wallichiana*, *E. peltatum* y *P. mickelii*, pero en *A. denticulata* son las células epidérmicas abaxiales las que tienen mayor tamaño promedio. *D. wallichiana* muestra las células epidérmicas más pequeñas, mientras que la epidermis adaxial de la lámina fértil de *E. peltatum* presenta las células más grandes, con un patrón poligonal a subpoligonal, de paredes rectas (Cuadro 13).

Las hojas de las cuatro especies son hipostomáticas, es decir, los estomas se localizan en la superficie abaxial de la lámina. Los estomas de tipo anisocítico son los más abundantes en *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii*, aunque también los hay tetracíticos, polocíticos y anomocíticos; en *Elaphoglossum peltatum* los estomas más abundantes son los copolocíticos pero pueden presentarse polocíticos y diacíticos. En cuanto al tamaño de los

estomas y la densidad estomática *D. wallichiana* es el que exhibe los estomas más pequeños, con células oclusivas de 42 μm , y la mayor densidad de estomas con 73 estomas por mm^2 ; por el contrario *E. peltatum* tiene los estomas más grandes (56 μm) y la menor densidad estomática con 19 estomas por mm^2 (Cuadro 13).

En corte transversal, las cuatro especies muestran una epidermis simple con cutícula delgada, las células epidérmicas son de forma variable, van de rectangulares a cuadradas o isodiamétricas, no presentan cristales y sus paredes celulares están ligeramente engrosadas. Las células epidérmicas de la superficie adaxial son de mayor tamaño con respecto a las células epidérmicas abaxiales. El mesófilo está compuesto por parénquima en empalizada y parénquima esponjoso en *D. wallichiana*, *P. mickelii* y la hoja estéril de *E. peltatum*; mientras que en *A. denticulata* y la hoja fértil de *E. peltatum* únicamente está compuesto por parénquima esponjoso. El número de capas de parénquima en empalizada varía de uno a tres, siendo *E. peltatum* en donde se observa solo una capa y *D. wallichiana* el que presenta hasta tres capas. Con respecto al parénquima esponjoso, el número de capas va de tres a siete, siendo la hoja estéril de *E. peltatum* en donde se presentan la menor cantidad, mientras que *D. wallichiana* y la hoja estéril de *E. peltatum* presentan la mayor cantidad (Cuadro 13).

Los haces vasculares de las hojas de las cuatro especies muestran un arreglo similar al que presentan en los haces de menor tamaño del pecíolo y raquis de cada especie. Presentan una vaina del haz con células isodiamétricas de tamaño variable, en *Dryopteris wallichiana* y *Elaphoglossum peltatum* se presenta un engrosamiento en la pared periclinal interna de las células, similar a lo que se observan en la banda circumendodermal en los haces del pecíolo, en *D. wallichiana* estos engrosamientos son pardo oscuro, mientras que en *E. peltatum* son hialinos. *Arachniodes denticulata* y *Polystichum mickelii* no presentan engrosamientos en las células de la vaina del haz, sin embargo, la endodermis de estos dos helechos presenta células con contenido oscuro en su lumen, lo que da la apariencia de una vaina del haz con engrosamientos en la pared periclinal interna de las células. La endodermis está compuesta de una sola capa de células rectangulares pequeñas, a diferencia de las de *A. denticulata* y *P. mickelii*, la endodermis de las hojas de *D. wallichiana* y *E. peltatum* no presenta células con contenido oscuro. El periciclo está formado por una sola capa de células de diferente tamaño, algunas pueden tener contenido marrón y xilema rodeado por el floema (Cuadro 13).

Los soros de *A. denticulata* y *D. wallichiana* presentan un receptáculo amplio con varias capas de células y un indusio con inserción central, en *P. mickelii* los soros no tienen indusio y el receptáculo es plano con una o dos capas de células. *E. peltatum* es el único con un soro acrosticoide en donde los esporangios se localizan en toda la superficie abaxial de la lámina y surgen de la epidermis (Cuadro 13).

Cuadro 13. Caracteres anatómicos de la lámina.

	<i>A. denticulata</i>	<i>D. wallichiana</i>	<i>E. peltatum</i>	<i>P. mickelii</i>
Tamaño de células epidérmicas	Adaxial: 128 x 40 μm Abaxial: 145 x 48 μm	Adaxial: 79 x 32 μm Abaxial: 77 x 34 μm	Adaxial: 105 x 42 μm Abaxial: 100 x 43 μm Adaxial fértil: 154 x 82 μm	Adaxial: 120 x 35 μm Abaxial: 103 x 40 μm
Tamaño de células oclusivas	53 μm	42 μm	56 μm	51 μm
Densidad estomática	22 x mm^2	73 x mm^2	19 x mm^2	62 x mm^2
Tipos de estomas	Anisocítico, tetracítico, anomocítico y diacítico	Anisocítico, polocítico, anomocítico y tetracítico	Copolocítico, polocítico, diacítico y anomocítico	Anisocítico, tetracítico, anomocítico y diacítico
Capas de parénquima en empalizada	No	2-3	Estéril: 1 Fértil: No	1-2
Capas de parénquima esponjoso	4-6	5-7	Estéril: 3-4 Fértil: 7	4-5
Células de la vaina con paredes engrosadas	No	Sí, depósitos pardo oscuro	Sí, depósitos hialinos	No
Endodermis	1 capa con contenido oscuro en su lumen	1	1	1 capa con contenido oscuro en su lumen
Soro	Con receptáculo amplio e indusio con inserción central	Con receptáculo amplio e indusio con inserción central	Esporangios surgen de la epidermis	Con receptáculo plano, exindusiado

Esporas

Las cuatro especies exhiben esporas monoletes y elipsoidales, en *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii* son de color pardo oscuro mientras que en *Elaphoglossum peltatum* son de color negro. Las esporas más pequeñas se presentan en *P. mickelii* con un tamaño promedio de 45 x 33 μm y las más grandes las presenta *E. peltatum* con un tamaño promedio de 76 x 55 μm (Cuadro 14).

La ornamentación del perisporio es reticulada en *Arachniodes denticulata* y *Polystichum mickelii*, las crestas son delgadas con bordes equinados y perforaciones de diferente diámetro en *A. denticulata*, mientras que en *P. mickelii* se presentan crestas delgadas y pliegues gruesos, con bordes equinulados y perforaciones de diámetro pequeño. En *Dryopteris wallichiana* la superficie es rugulada con pliegues gruesos y elevados. Por último, en *Elaphoglossum peltatum* la superficie es equinulada con pliegues anchos y bajos (Cuadro 14).

Cuadro 14. Esporas

	<i>A. denticulata</i>	<i>D. wallichiana</i>	<i>E. peltatum</i>	<i>P. mickelii</i>
Color	Pardo oscuro	Pardo oscuro	Negro	Pardo
Forma	Elipsoidal	Elipsoidal	Elipsoidal	Elipsoidal
Tamaño	48 x 31 μm	51 x 32 μm	76 x 55 μm	45 x 33 μm
Ornamentación del perisporio	Equinada con crestas delgadas, irregulares y numerosas perforaciones de diámetro variable, los bordes de las crestas equinados	Rugulada con pliegues gruesos y elevados	Equinulada con pliegues anchos y bajos	Equinulada, con crestas delgadas y pliegues gruesos, irregulares, numerosas perforaciones de diámetro pequeño, los bordes también equinulados

Discusión

Morfología de la hoja

Tanto las observaciones de la morfología externa, la morfometría y el dendograma (Cuadro 11 y Figura 31) corroboran que *Elaphoglossum peltatum* es el helecho que más difiere del resto de las especies aquí estudiadas al tener hojas dimórficas y soros acrosticoides, además, en el dendograma se encuentra formando el grupo I por ser los helechos de talla más pequeña, hasta 10.5 cm de longitud, con láminas que van de 1-3 cm de largo.

Por el contrario, las especies *Dryopteris wallichiana*, *Polystichum mickelii* y *Arachniodes denticulata* son monomórficas y presentan soros redondeados y discretos, de acuerdo al dendograma corresponden a los grupos II y III, en donde los ejemplares de *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii* forman el grupo II, debido a que morfológicamente son similares en el tamaño de las hojas que van de 46-103 cm y en la forma al presentar frondas en donde las pinnas medias son más grandes que las basales, son lanceoladas-elípticas, 1-pinnada-pinnatífida a 2-pinnadas. Por último, los individuos de *Arachniodes denticulata* corresponden al grupo III y se caracterizan por tener hojas en donde las pinnas basales son más grandes que las pinnas medias, dándole la forma deltada-pentagonal, 3-pinnada.

Todas las especies presentan venación libre con venas simples y/o bifurcadas varias veces (Cuadro 11), este tipo de venación ya ha sido reportada para los géneros de las especies estudiadas, *Arachniodes*, *Polystichum*, *Dryopteris*, *Elaphoglossum* (Roux y Van Wik, 2000; Hernández *et al.*, 2006; Rojas, 2007), y también en *Ctenitis melanosticta* (Hernández *et al.*, 2007). No obstante, en géneros que pertenecen a la misma familia como *Phanerophlebia* y *Polybotrya* la venación puede ser libre o anastomosada (Moran, 1987; Yatskievych, 1996), mientras que en *Cyrtomium* solo se menciona venación anastomosada (Roux y Van Wik, 2000).

La diversidad de escamas, su tamaño y ubicación es diferente en cada una de las especies (Cuadro 11), *E. peltatum* únicamente tiene escamas pequeñas fibrilosas, deltadas y peltadas, mientras que *P. mickelii* muestra la mayor diversidad de escamas, al tener escamas de distintos tamaños, clatradas, bicoloras, lineares-lanceoladas, basifijas y escamas pequeñas deltadas o aracniformes, peltadas. *A. denticulata* y *D. wallichiana* muestran escamas fibrilosas, linear-lanceoladas a ovado-lanceoladas y basifijas de distintos tamaños. Estos tipos de escamas coinciden con lo que mencionan previamente Moran y Riba (1995) y Mickel y Smith (2004) para las mismas especies en *Flora Mesoamericana* y *The Pteridophytes of Mexico*, sin embargo en esta tesis se describieron con mayor detalle los tipos de escamas presentes en *D. wallichiana* y *P. mickelii* quienes presentan la mayor diversidad de escamas.

Cabe resaltar que el indumento ha sido de gran importancia taxonómica dentro de Dryopteridaceae, ya que en géneros como *Elaphoglossum* la diversidad de escamas ha permitido definir diferentes secciones dentro del género como lo hicieron Mickel y Atheortúa (1980), e

incluso es de ayuda en la identificación de especies en géneros como *Polystichum*, *Elaphoglossum* y *Phanerophlebia* donde la variedad de escamas reducidas es útil para distinguir entre las especies (Barrington, 1989, Guantay y Hernández, 1995, Yatskievych, 1996 y Lavalle y Rodríguez, 2010). Sin embargo, hay que tomar en cuenta que el indumento no es único de Dryopteridaceae y también resulta útil para distinguir entre varias familias de helechos como Marattiaceae, Cyatheaceae, Pteridaceae o Polypodiaceae (Rolleri *et al.*, 1991; Moran y Riba, 1995).

Anatomía del pecíolo y raquis

Las cuatro especies estudiadas presentan similitudes en la anatomía del pecíolo y raquis, como son la epidermis uniestratificada, córtex formado por colénquima y parénquima, y especialmente algunas características del sistema vascular como son numerosos haces vasculares en el pecíolo, la presencia de una banda circumendodermal rodeando los haces vasculares y el xilema en hipocampo, las cuales ya han sido utilizadas para definir a la familia por varios autores como Ogura (1972), Lin y De Vol (1977, 1978), Smith *et al.* (2006), Hernández *et al.* (2012) y Moran (2014) (Cuadro 12).

En esta tesis se definió como colénquima a las células de paredes engrosadas del córtex por la presencia de protoplasto en el interior de éstas y difiere de lo que ha sido reportado para *Elaphoglossum*, *Polystichum*, *Dryopteris* y *Ctenitis melanosticta* en donde se describe como esclerénquima (Guantay y Hernández, 1995; Roux y Van Wik, 2000; Hernández *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2007); sin embargo, no se descarta la posibilidad de que en hojas más adultas se pueda presentar esclerénquima. *Polybotrya* es uno de los géneros dentro de Dryopteridaceae en donde también se reporta la presencia de colénquima (Moran, 1987).

Existen diferencias en el número de capas de colénquima del córtex en las cuatro especies, únicamente *D. wallichiana* y *P. mickelii* presentaron un número similar de capas (Cuadro 12). Es posible que este carácter se encuentre influenciado por el tamaño de la fronda, la edad y el hábitat de la planta, como lo menciona Roux y Van Wik (2000), y por lo tanto *E. peltatum* al ser el helecho de menor talla muestra el menor número de capas de colénquima, mientras que *D. wallichiana* y *P. mickelii* exhiben mayor cantidad de capas por ser helechos de mayor tamaño.

Con respecto al sistema vascular se observa que *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii* tienen un patrón de haces vasculares similar, en donde el mayor número se aprecia en la base del pecíolo y tiende a disminuir conforme se aumenta de nivel en el pecíolo y raquis. En *E. peltatum* se observa que en la hoja estéril se mantiene el mismo número en todo el pecíolo y en la hoja fértil el número aumenta antes de comenzar la lámina (Cuadro 12). Roux y Van Wik (2000) explican que la variación en el número de haces vasculares a lo largo del pecíolo y raquis, puede deberse al tamaño de las frondas o a diferencias en el nivel al que se realizan los cortes, ya que existe variación en la cantidad de haces en distancias pequeñas debida a la fusión y separación de los haces vasculares. Además, es posible que el aumento de haces vasculares que se observa en la

hoja fértil de *E. peltatum* se encuentre relacionado con la forma casi indivisa de la hoja y a la necesidad de inervar mejor la hoja.

Todas las especies tienen diferencias en el número de haces vasculares de la base del pecíolo (Cuadro 12), siendo *D. wallichiana* quien tiene el mayor número de haces vasculares al presentar de ocho a once haces y difiere ligeramente de lo reportado por Hernández *et al.* (2006) quienes indican que esta especie presenta entre ocho y nueve haces; a pesar de ello, Roux y Van Wik (2000) y Hernández *et al.* (2006) reportan que en el número de haces vasculares en el género *Dryopteris* es muy amplio y puede variar de tres a más de 12 haces en la base del pecíolo, por lo tanto el número de haces vasculares reportados en esta tesis se encuentra dentro del rango del género. *A. denticulata* con cuatro haces y *P. mickelii* con entre cinco y siete haces vasculares exhiben un número que concuerda con lo reportado por Roux y Van Wik (2000) para estos géneros, quienes mencionan de cuatro a seis haces para *Arachniodes* y de dos a nueve haces en *Polystichum*. Por último, *E. peltatum* es quien tiene el menor número de haces vasculares, tanto la base del pecíolo de la hoja estéril como de la hoja fértil presentan dos haces vasculares, que difieren de lo reportado por Hernández *et al.* (2012b) para la misma especie, ya que los autores mencionan la presencia de tres haces vasculares en la base del pecíolo. No obstante, los estudios anatómicos de Guantay y Hernández (1995), Hernández (2012b) y Feio *et al.* (2013) reportan que en el género *Elaphoglossum* el número de haces vasculares en la base del pecíolo es variable, y generalmente va de dos a cinco haces; por lo tanto, la presencia de menos de tres haces vasculares en la base del pecíolo observada en esta tesis, posiblemente se debe al tamaño de las frondas, ya que como lo han reportado Guantay y Hernández (1995), Roux y Van Wik (2000) y Schuettpelz y Pryer (2007) algunos helechos pequeños de *Elaphoglossum*, *Polystichum*, *Hypodematium* y helechos grammitidos únicamente poseen uno o dos haces vasculares en el pecíolo, con relación a helechos de su mismo género pero de mayor talla que presentan numerosos haces vasculares.

El estele observado en esta tesis para *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii* (Cuadro 12) fue descrito por Ogura (1972) como un polistele del tipo *Aspidium* que se caracteriza por presentar numerosos haces vasculares redondeados o ligeramente elongados que van reduciéndose gradualmente a lo largo del pecíolo y el raquis, se encuentran arreglados en forma de arco, con los dos haces de mayor tamaño adaxiales y el xilema con un gancho adaxial que le da forma de hipocampo. Este estele es característico de Dryopteridaceae y se encuentra en varios géneros como *Dryopteris*, *Bolbitis*, *Elaphoglossum*, *Phanerophlebia* y *Ctenitis melanosticta* (Hernández, *et al.*, 2006; Hernández, 2007; Hernández *et al.*, 2007, 2012b). Ogura (1972) también define el estele presente en *E. peltatum* como un diestele del tipo *Onoclea* caracterizado por presentar dos haces vasculares y xilema en hipocampo. No obstante, es importante destacar que *Polybotrya* difiere de las demás Dryopteridaceae por el arreglo de sus haces vasculares en forma de omega, además, de que el estele tipo *Aspidium* también está presente en géneros que no pertenecen a la familia como *Blechnum*, *Davallia*, *Lomariopsis*, *Nephrolepis*, *Tectaria* y *Woodwardia* (Ogura, 1972; Lin y DeVol, 1978; Hernández, 2007), mientras que los miembros de la familia

Polypodiaceae exhiben numerosos haces vasculares pero no presentan el xilema en forma de hipocampo (Zlotnik, 1991; Tejero, 2005), o algunas especies de *Diplazium* y la familia Thelypteridaceae poseen dos haces vasculares con xilema en forma de hipocampo (Hernández *et al.*, 2009; Mazumdar, 2013).

La banda circumdodermal que rodea a los haces vasculares del pecíolo y raquis, está presente en todas las especies estudiadas (Cuadro 12). En *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii* los engrosamientos son de color pardo oscuro, mientras que en *E. peltatum* son hialinos o de color pardo oscuro. Ogura (1972) y Lin y DeVol (1977, 1978) describieron a estas células como esclerénquima y por lo tanto la llamaron banda esclerosada, o banda cortical por encontrarse en el córtex. En cambio, Hernández (2007) estudió el origen y la composición de esta banda y reportó que los engrosamientos son celulósicos y se encuentran impregnados por taninos, no contienen lignina o suberina, por lo que proponen llamarla banda circumdodermal, por su origen, posición y composición. En este trabajo, se propone que en *E. peltatum* es posible que estos engrosamientos sean únicamente de celulosa y no contengan depósitos de taninos, de ahí su color hialino, por lo que se tiñen de verde con la tinción doble safranina-verde rápido.

Entre las principales funciones de esta banda se encuentran la de proteger los haces vasculares de patógenos y servir como tejido mecánico, además, cabe destacar que aunque la banda circumdodermal ya ha sido reportada en numerosos géneros de la familia como *Polybotrya*, *Elaphoglossum*, *Dryopteris*, *Ctenitis*, *Bolbitis*, *Phanerophlebia*, *Polystichum* (Moran, 1987; Guantay y Hernández, 1995; Hernández *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2012b), no se considera única de la familia ya que también se ha reportado en otros géneros del clado de los Eupolipodios I como *Woodwardia*, *Campyloneurum*, *Pleopeltis*, *Polypodium* y *Tectaria* (Lucansky, 1981; Zlotnik, 1991; Tejero, 2005; Hernández *et al.*, 2012b). Hernández *et al.* (2012b) menciona que la presencia de esta banda tanto en familias del clado de los Eupolipodios I (Davalliaceae, Lomariopsidaceae, Nephrolepidaceae, Oleandraceae, Polypodiaceae y Tectariaceae) como de los Eupolipodios II (Athyriaceae, Blechnaceae, Cystopteridaceae y Thelypteridaceae), sugiere que su ocurrencia tiene importancia evolutiva dentro de los helechos polipodiáceos y que tuvo su origen antes de la divergencia del clado de los Eupolipodios.

Una característica importante que se observó en este estudio fue que *A. denticulata* es la única especie que presenta una masa de células con engrosamientos de color pardo oscuro posiblemente depósitos de taninos, en la médula de la base del pecíolo (Figura 8A y D). La presencia de este tejido en la médula del pecíolo no ha sido reportada en otros miembros de la familia; sin embargo, Ogura (1972) menciona que en especies como *Pteridium aquilinum* se presentan masas de esclerénquima embebidas en el córtex, lo mismo que Lin y DeVol (1977) quienes mencionan que en Dryopteridaceae y Athyriaceae es común encontrar masas de esclerénquima dispersas en el córtex.

Anatomía de la lámina

Con excepción de la epidermis adaxial de la lámina fértil de *E. peltatum* que presenta un modelo poligonal a subpoligonal, las cuatro especies muestran un patrón epidérmico sinuoso (Figuras 9, 15, 21 y 28), que difiere entre las especies e incluso entre la epidermis adaxial y abaxial de la misma hoja, en la frecuencia, profundidad y amplitud de las ondas, así como en el tamaño y forma de las células epidérmicas. Generalmente las células abaxiales son más pequeñas y tienen paredes más sinuosas, con respecto a las células adaxiales (Cuadro 13). Sin embargo, estas observaciones son similares a los modelos epidérmicos que se han descrito en numerosos géneros de helechos, como *Polybotrya*, *Angiopteris*, *Adiantum*, *Pityrogramma*, *Pteris*, *Marattia*, *Doryopteris*, *Elaphoglossum*, *Anemia*, *Asplenium*, *Blechnum* y *Cheilanthes* (Moran, 1987; Rolleri *et al.*, 1991; Gracano *et al.*, 2001; Rolleri *et al.*, 2001; Terán *et al.*, 2009; Lavalle y Rodríguez, 2010; Lujan *et al.*, 2011) en donde la mayoría de los autores reportan patrones poligonales, subpoligonales y sinuosos en la epidermis adaxial, mientras que en la epidermis abaxial solo se presentan patrones sinuosos que varían en la amplitud, profundidad y frecuencia de las ondas.

Aunque, Lavalle y Rodríguez (2010) mencionan que en *Elaphoglossum* los modelos epidérmicos son importantes como un carácter diagnóstico a nivel específico, considero que el uso de los modelos epidérmicos como un carácter taxonómico debe manejarse con precaución, debido a que autores como Stace (1965) y Van Cotthem (1970) demostraron que tanto la forma de las células epidérmicas como su tamaño, son caracteres variables que están influenciados por factores ambientales y ecológicos como la intensidad de luz, la humedad del suelo y el aire, así como por la edad de la hoja, la posición de las hojas en el tallo y de la posición de las células en la hoja. Además, Kato e Imaichi (1992) encontraron que las células epidérmicas son más sinuosas en especies que se encuentran en lugares con mayor humedad, y Gracano *et al.* (2001) mencionaron que los helechos que se encuentran en lugares sombreados o la superficie abaxial de la lámina que regularmente recibe menos luz, exhiben células con paredes más sinuosas, en comparación con aquellos helechos y/o superficies que están expuestas a una mayor cantidad de luz, en donde se observan células con contornos rectos o ligeramente sinuosos.

Aunque el tamaño de los estomas y la densidad estomática es diferente en cada una de las especies estudiadas, la característica que tiene mayor relevancia es el tipo de estoma, ya que en *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii* predominan los estomas anisocíticos, mientras que en *E. peltatum* son los estomas copolocíticos (Cuadro 13). Estos tipos de estomas difieren de los estomas polocíticos y anomocíticos que han sido identificados en *Arachniodes*, *Polystichum*, *Dryopteris*, *Ctenitis* y *Elaphoglossum* (Roux y Van Wik, 2000; Hernández *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2007; Lavalle y Rodríguez, 2010), sin embargo, estas diferencias se deben principalmente a la clasificación empleada para identificar los estomas, ya que la clasificación utilizada en este estudio fue la de Prabhakar (2004) y que toma en cuenta el número y arreglo de las células subsidiarias, a diferencia de las clasificaciones de Van Cotthem (1970) y Sen y De (1992) que describieron los tipos de estomas basados en su ontogenia y reportaron que el tipo de estoma que predomina en la familia Dryopteridaceae, así como en la mayoría de las familias de

helechos es el polocítico, el cual se caracteriza por la presencia de una célula subsidiaria en forma de herradura que cubre parcialmente a las células oclusivas.

En *A. denticulata* y la hoja fértil de *E. peltatum* se observó la presencia del mesófilo unifacial, característica observada en especies de Dryopteridaceae, para el género *Polybotrya* y las especies *Teratophyllum rotundifolium* y *Ctenitis melanosticta* (Moran, 1987; Nasrulhaq y Duckett, 1991; Hernández *et al.*, 2007). Por otro lado, *D. wallichiana*, *P. mickelii* y la hoja estéril de *E. peltatum* presentaron el mesófilo bifacial, lo cual corresponde con lo descrito para *Elaphoglossum* y *Dryopteris* (Guantay y Hernández, 1995; Hernández *et al.*, 2006), así como en géneros que no pertenecen a Dryopteridaceae como *Pleopeltis* y *Doryopteris* (Ferrari, 2009; Terán *et al.*, 2009). Según Gracano *et al.* (2001), los helechos que se encuentran en lugares sombreados tienden a presentar un mesófilo indiferenciado y con menos capas de células, en comparación con los individuos que se localizan en lugares soleados que suelen presentar un mesófilo dorsiventral, con mayor número de capas celulares, por lo tanto, las variaciones observadas en el tipo de mesófilo pueden deberse al lugar en donde habitan estos helechos.

Esporas

Las cuatro especies presentan esporas monoletes, elipsoidales con diferencias en la ornamentación del perisporio que permiten distinguirlas entre sí, pero cabe mencionar que es posible que exista ligera variación en la ornamentación del perisporio dentro de las esporas de cada especie (Cuadro 14). La superficie y ornamentación del perisporio de las especies aquí estudiadas corresponde con lo descrito por Tryon y Lugardon (1991), para los géneros a los que pertenecen, en *Dryopteris* la mayoría de las especies presenta una superficie rugulada con pliegues anchos y continuos, al igual que lo que se observó en *D. wallichiana*. Para *A. denticulata* los autores describieron una ornamentación equinulada, con crestas comprimidas y perforadas, semejante a lo que se observó en este estudio; sin embargo, en la mayoría de las especies de *Arachniodes* se describen esporas similares a los que se presentan en *Dryopteris*. De igual manera, la ornamentación de *P. mickelii* concuerda con lo descrito por los autores para el género, en donde la mayoría de las especies muestran un perisporio con pliegues o crestas comprimidas, equinuladas, fenestradas o equinadas.

Por último, las esporas de *E. peltatum* corresponden con lo descrito por Moran *et al.* (2007) para las especies de *Elaphoglossum* sección *Squamipedia*, las cuales se caracterizan por presentar una superficie equinulada con pliegues anchos, sin perforaciones, y que pueden distinguirse de las esporas de secciones como *Pachyglossa* y *Setosa* en donde pueden presentarse crestas o pliegues anchos, con perforaciones y espinas, o de *Lepidoglossa* en donde se presentan pliegues anchos, sin perforaciones ni espinas.

La ornamentación del perisporio resulta ser un carácter de suma importancia no solo para la identificación de las especies estudiadas, sino para los helechos en general, sin embargo, las

similitudes, en el caso específico de la ornamentación de las esporas de *Arachniodes* con las de *Dryopteris* y *Polystichum*, han ayudado a sustentar las relaciones entre los tres géneros.

Análisis filogenético

El cladograma inferido a partir de las tres secuencias de cloroplasto (*rbcL*, *psbA-trnH* y *trnL-F*) para las cuatro especies estudiadas (Figura 32), coincide con lo reportado por numerosos autores que han estudiado las relaciones filogenéticas de la familia como Liu *et al.* (2007, 2015), Schuettpelz y Pryer (2007), Moran y Labiak (2015) y Le Péchon *et al.* (2016). Sin embargo, el principal aporte de este trabajo es el análisis de las secuencias obtenidas de especies mexicanas.

Los dos clados que se observan en el cladograma obtenido en este estudio corresponderían con dos de las tres subfamilias propuestas por Liu *et al.* (2015) y el PPG I (2016). El clado A está formado por las especies del género *Elaphoglossum* y correspondería con el clado de la subfamilia Elaphoglossoideae, en donde también se encuentran circunscritos géneros como *Bolbitis* o *Megalastrum*; mientras que el clado B compuesto por las especies de *Polystichum*, *Arachniodes denticulata* y *Dryopteris wallichiana*, coincide con el clado de la subfamilia Dryopteridoideae, en donde también se incluyen géneros como *Ctenitis*, *Cyrtomium* y *Phanerophlebia* por mencionar algunos.

Estos resultados moleculares sirvieron para robustecer los resultados morfo-anatómicos presentados en esta tesis, ya que tanto morfo-anatómicamente como molecularmente las cuatro especies aquí estudiadas forman dos grupos bien definidos que coinciden con la filogenia de la familia y corresponden con las subfamilias Elaphoglossoideae y Dryopteridoideae. El primer grupo está compuesto únicamente por *Elaphoglossum peltatum*, quien muestra diferencias morfo-anatómicas que lo hacen el más diferente de los helechos, y que incluyen el tipo de hojas, su forma y tamaño, así como el tipo de indumento, tipo de soro, número de haces vasculares en el pecíolo y tipo estomas. El segundo grupo está compuesto por *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii* los cuales comparten características morfo-anatómicas similares como son el tipo de hoja, tipo de soro, haces vasculares numerosos y tipo de estomas. No obstante, las cuatro especies tienen caracteres morfo-anatómicos similares tanto en el pecíolo como en la lámina, como son la venación simple, haces vasculares rodeados por una banda circumendodermal que puede o no tener depósitos de taninos, xilema en forma de hipocampo y esporas monoletes, elipsoidales.

Conclusiones

Este estudio contribuyó al conocimiento morfo-anatómico de la familia ya que aportó información que permitió reconocer semejanzas anatómicas entre las especies estudiadas, principalmente en el sistema vascular del pecíolo, como son un xilema en hipocampo, la presencia de la banda circumendodermal y numerosos haces vasculares en la base del pecíolo.

Además, para estas especies se identificaron características morfo-anatómicas que podrían ser de ayuda para delimitar anatómicamente a las subfamilias a las que corresponden, ya que en el caso de *Elaphoglossum peltatum* se presentan hojas dimórficas, soros acrosticoides, estomas copolocíticos y un patrón y comportamiento diferente en los haces vasculares del pecíolo. Mientras que *Arachniodes denticulata*, *Dryopteris wallichiana* y *Polystichum mickelii* presentaron mayor semejanza morfo-anatómica entre ellas, resaltando características como las hojas monomórficas, soros discretos y redondeados, estomas anisocíticos y un patrón similar de los haces vasculares del pecíolo y raquis.

Los resultados morfo-anatómicos aquí mostrados, en especial los que se mencionan en el párrafo anterior podrían apoyar y soportar los resultados del análisis molecular realizado, el cual también coincide con la filogenia y propuestas de clasificación de Liu *et al.* (2015) y el PPG I (2016), situando en todos los casos a *E. peltatum* dentro del clado de la subfamilia Elaphoglossoideae, y agrupando a *A. denticulata*, *D. wallichiana* y *P. mickelii* en un grupo que correspondería con la subfamilia Dryopteridoideae.

Bibliografía

- Acebey, A., Krömer, T., Vázquez-Torres, M. y Tejero-Díez, J. D. 2015. Helechos y licófitos de la reserva de la biosfera Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Botanical Sciences* 93: 313-344.
- Albornoz, P. L. y Hernández, M. A. 2005. Anatomía y micorrizas en *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link (Pteridaceae). Libro de Resúmenes XXX Jornadas Argentinas de Botánica.
- Amoroso, V. B. y Pava, H. P. 1991. Comparative morpho-anatomical studies of two endemic species of *Oleandra* Cav. *Philippine Journal of Science* 120: 423-437.
- Barrington, D. 1989. New species and combinations in tropical American *Polystichum* (Dryopteridaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 76: 365-373.
- Barrington, D. 1995. *Polystichum*. En: Moran, R. y Riba, R. (Eds.). *Flora Mesoamericana. Vol 1. Psilotaceae a Salviniaceae*. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México; Missouri Botanical Garden y The Natural History Museum.
- Bell, P. 1951. Studies in the genus *Elaphoglossum*: III. Anatomy of the rhizome and frond. *Annals of Botany*, 15: 347-357.
- Bercu, R. y Bercu, D. 2008. Anatomy and number of variations of the vascular bundles (meristeles) of fern *Thelypteris palustris* Schott. (Thelypteridaceae). *Journal of Environmental Protection and Ecology* 9: 807-815.
- Bhattarai, K., Vetaas, O. y Grytnes, J. 2004. Fern species richness along a central Himalayan elevational gradient, Nepal. *Journal of Biogeography* 31: 389-400.
- Bower, F. O. 1923. *The ferns (Filicales). Vol I. Analytical examination of the criteria of comparison*. Cambridge University Press. 359 pp.
- Bower, F. O. 1926. *The ferns (Filicales). Vol II. The Eusporangiate and other relative primitive ferns*. Cambridge University Press. 344 pp.
- Bower, F. O. 1928. *The ferns (Filicales). Vol III. The Leptosporangiate ferns*. Cambridge University Press. 306 pp.
- Chaerle, P. y Viane, R. 2004. Leaf anatomy and the occurrence of false veins in *Asplenium* (Aspleniaceae, Pteridophyta). *Botanical Journal of the Linnean Society* 145: 187-194.
- Christenhusz, M., Zhang, X-C. y Schneider, H. 2011. A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns. *Phytotaxa*, 19: 7-54.
- Cutler, D., Botha, C. E. J. y Stevenson, D. W. 2007. *Plant Anatomy: an applied approach*. Blackwell Publishing. 302 pp.
- Evert, R. F. y Eichhorn, S. E. 2013. *Raven: biology of plants*. W. H. Freeman y Co. 864 pp.
- Feio, A., de Aguilar-Dias, A. y de Vilhena P. R. 2013. *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae-Fern) of Amazon rainforest in Brazil: Anatomic characterization and adaptative strategies. *American Journal of Plant Sciences* 4: 1863-1871.

- Ferrari, F. B. 2009. Anatomía foliar de especies de Aspleniaceae e Polypodiaceae (Monilofitas) ocurrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, MG, Brasil. Dissertacao de mestrado. Univerdidade Federal de Vicoso. Vicoso. Brasil. 88 pp.
- Gracano, D., Azevedo, A. y Prado, J. 2001. Anatomía foliar das espécies de Pteridaceae do Parque Estadual do Rio Doce (PERD)- MG. *Revista Brasileira de Botanica* 24: 333-347.
- Guantay, M y Hernández, M. 1995. Estudio morfoanatómico de las especies del género *Elaphoglossum* Schott de Tucumán. *Lilloa* 38: 73-84.
- Hai, H., Wu, S., Jianying, X. y Barrington, D. S. 2013. *Arachniodes*. En: Wu, Z. Y., Raven, P. H. y Hong, D. Y. (Eds.) *Flora of China. Vol. 2-3 (Lycopodiaceae through Polypodiaceae)*. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Hall, 1999
- Hernández, M., Albornoz, P., Rodríguez, F. y Serrano, S. 2008. Anatomía de rizoma, raíz y micorrizas arbusculares en *Cheilanthes pruinata* Kaulf. y *Cheilanthes myriophylla* Desv. (Pteridaceae) en el Noreste Argentino. *Lilloa* 45: 73-82.
- Hernández, M., Terán, G y Albornoz, P. 2010. Morfología, anatomía y endomicorrizas en el esporofito de *Doryopteris concolor*. *Lilloa* 47: 74-84.
- Hernández, M. y Rodríguez, F. 2010. Morfología y anatomía del esporofito de *Adiantopsis chlorophylla* (Pterydaceae). *Lilloa* 47: 85-94.
- Hernández, M., Názaro, M. y Orqueda, M. 2011a. Morfología y anatomía del esporofito de *Cheilanthes pilosa* (Pteridaceae) *Lilloa* 48: 74-82.
- Hernández, M., Varela, O., Fernández, Y. y Nadra, M. 2011b. Caracterización morfológica y anatómica del esporofito de *Trachypteris pinnata* (Pteridaceae) en relación con la xeromorfía. *Lilloa* 48: 153-165.
- Hernández, M., Varela, O., Terán, L. y Mata, M. 2012a. Preferencia de hospedero, orientación y rasgos morfológicos-anatómicos de *Pleopeltis minima* (Polypodiaceae) en un ambiente urbano. *Lilloa* 49: 105-117.
- Hernández, V., Terrazas, T. y Ángeles, G. 2006. Anatomía de seis especies de helechos del genero *Dryopteris* (Dryopteridaceae) de México. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol.)* 54: 1157-1169.
- Hernández, V. 2007. Ontogenia, origen, composición y función de la banda circumendodermal en pteridofitas. Tesis de doctorado, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Edo. Mex. 114 pp.
- Hernández, V., Terrazas, T. y Mehlreter, K. 2007. Anatomía vegetativa de *Ctenitis melanosticta* (Dryopteridaceae, Pteridophyta). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 80: 7-17.
- Hernández, V., Terrazas, T. y Stevenson, D. 2009. Ontogeny of *Ctenitis melanosticta* (Kunze) Copel. and *Diplazium expansum* Willd. (Dryopteridaceae) fronds with emphasis on the circumendodermal sheath. *Feddes Repertorium* 120: 426-442.

- Hernández, V., Terrazas, T., Mehltreter, K. y Ángeles, G. 2012b. Studies of petiolar anatomy in ferns: structural diversity and systematic significance of the circumendodermal band. *Botanical Journal of the Linnean Society* 169: 596-610.
- Herrera, M. C. M. 1993. Anatomía de dos especies de *Cheilanthes* Swartz. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 107 p.
- Kato, M. e Imaichi, R. 1992. Leaf anatomy of tropical fern rheophytes, with its evolutionary and ecological implications. *Canadian Journal of Botany* 70: 165-174.
- Kessler, M. 2010. *Biogeography of ferns*. In: Mehltreter, K., Walker, L. R. y Sharpe J. M. (Eds.). *Fern Ecology*. Cambridge University Press. Cambridge, NY, pp. 22-60.
- Khare, P. K. y Shankar, R. 1989. On the petiolar structure of some *Asplenium* species. *Canadian Journal of Botany* 67: 95-103.
- Kreft, H., Jetz, W., Mutke, J. y Barthlott, W. 2010. Contrasting environmental and regional effects on global pteridophyte and seed plant diversity. *Ecography*. 33: 408–419.
- Labiak, P., Sundue, M., Rouhan, G., Hanks, J., Mickel, J. y Moran, R. 2014. Phylogeny and historical biogeography of the lastropsid ferns (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany*. 101: 1228-2014.
- Lavallo, M. 2007. Caracteres diagnósticos foliares en especies neotropicales de *Marattia* Sw. (Marattiaceae- Pteridophyta). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 192-201.
- Lavallo, M. y Rodríguez, M. 2010. Indumento y modelos epidérmicos en especies argentinas de *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae-Pteridophyta) *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 45: 245-256.
- Le Péchon, T., He, H., Zhang, L., Zhou, X-M., Gao, X-F. y Zhang, L-B. 2016. Using a multilocus phylogeny to test morphology-based classifications of *Polystichum* (Dryopteridaceae), one of the largest fern genera. *BMC Evolutionary Biology*. 16: 55.
- Lin, B-L. y DeVol, C. E. 1977. The use of stipe characters in fern taxonomy I. *Taiwania* 22: 91-99.
- Lin, B-L. y DeVol, C. E. 1978. The use of stipe characters in fern taxonomy II. *Taiwania*. 23: 77-95
- Little, D. y Barrington, D. 2003. Major evolutionary events in the origin and diversification of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany*. 90: 508-514.
- Liu, H-M., Zhang, X-C., Wang, W., Qui, Y-L. y Chen, Z-D. 2007. Molecular phylogeny of the fern family Dryopteridaceae inferred from chloroplast *rbcL* and *atpB* genes. *International Journal of Plant Sciences*. 168: 1311-1323.
- Liu, H-M., Zhang, X-C., Wang, M-P., Shang, H., Zhou, S-L., Yan, Y-H., Wei, X-P., Xu, W-B. y Schneider, H. 2015. Phylogenetic placement of the enigmatic fern genus *Trichoneuron* informs on the infra-familial relationship of Dryopteridaceae. *Plant Systematics and Evolution*. 302: 319-332.
- Lobo, S. M. y Krishnakumar, G. 2014. Studies on ecological anatomy of the mangrove fern *Acrostichum aureum* L. *International Journal of plant, animal and environmental sciences* 4: 195-200.
- Lu, J- M., Barrington, D. y Li, D-Z. 2007. Molecular phylogeny of the polystichoid ferns in Asia based on *rbcL* sequences. *Systematic Botany*. 32: 26-33.

- Lucansky, T. 1981. Chain ferns of Florida. *American Fern Journal*. 71: 101-108.
- Lujan, M., Morero, R. y Barboza, G. 2011. Estudios epidérmicos en helechos y licofitas medicinales de la Provincia de Córdoba, Argentina. *Hoehnea* 38: 609-659.
- Martínez, S. E. y Ramos, C. H. 2014. Biodiversidad de pteridophyta en México. *Revista mexicana de biodiversidad*. 85: S110-S113.
- Mauseth, J. D. 2014. *Botany: an introduction to plant biology*. Jones y Bartlett Publishers. Massachusetts. 696 pp.
- Mazumdar, J. 2013. Studies in the morpho-anatomy and antimicrobial properties of some Thelypteroid ferns. Tesis de doctorado, Universidad de Burdwan. India. 172 pp.
- Mehltreter, K. 2010. *Fern Conservation*. En: Mehltreter, K., Walker, L. R. y Sharpe J. M. (Eds.). *Fern Ecology*. Cambridge University Press. Cambridge, NY, pp. 323-359.
- Mendoza, A., Pérez, B. y Riba, R. 1999. Morfogénesis de la fase sexual del helechos *Arachniodes denticulata* (Dryopteridaceae). *Revista de Biología Tropical*. 47: 791-797.
- Mendoza, A. y Pérez, B. 2009. *Helechos y licopodios de México. Vol. 1*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. México, DF. 287 pp.
- Mengascini, A. 2002. Caracteres diagnósticos y taxonomía de cinco especies *Archangiopteris* Christ y Giesenh. (Marattiaceae Bercht. y J. S. Presl). *Revista del Museo de La Plata. Botánica*. 15: 3-22.
- Mickel, J. y Atehortúa, L. 1980. Subdivision of the genus *Elaphoglossum*. *American Fern Journal*. 70: 47-68.
- Mickel, J. y Beitel, J. 1988. *Pteridophyte Flora of Oaxaca, Mexico*. Memoirs of the New York Botanical Garden 46: 1-568.
- Mickel, J. y Smith, A. 2004. *The Pteridophytes of Mexico*. Memoirs of the New York Botanical Garden. 1054 pp.
- Minardi, B. D., Voytena, A. P. L., Santos, M. y Randi, A. M. 2014. The epiphytic fern *Elaphoglossum luridum* (Fée) Christ. (Dryopteridaceae) from Central and South America: Morphological and physiological responses to water stress. *The Scientific World Journal* 2014: ID 817892, 9 p.
- Mitsuta, S, Kato, M. e Iwatsuki, K. 1980. Stelar structure of Aspleniaceae. *The Botanical Magazine Tokio*. 93: 275-289.
- Moran, R. 1987. Monograph of the Neotropical Fern Genus *Polybotrya* (Dryopteridaceae). *Illinois Natural History Survey Bulletin* 34: 1-138.
- Moran, R. 1995. *Dryopteridaceae*. En: Moran, R.C. y Riba, R. (Eds.). *Psilotaceae a Salviniceae. Flora Mesoamericana. Vol 1*. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México; Missouri Botanical Garden y The Natural History Museum.
- Moran, R. y Riba, R. (Eds.). 1995. *Psilotaceae a Salviniceae. Flora Mesoamericana. Vol 1*. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México; Missouri Botanical Garden y The Natural History Museum.
- Moran, R., Hanks, J. y Rouhan, G. 2007. Spore morphology in relation to phylogeny in the fern genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae). *International Journal of Plant Sciences*. 168:905-929.

- Moran, R., Labiak, P. y Sundue, M. 2010. Phylogeny and character evolution of the bolbitidoid ferns (Dryopteridaceae). *International Journal of Plant Sciences*. 171: 547-559.
- Moran, R. 2014. *Neotropical Genera of Ferns and Lycophytes*. A guide for students. Prepared for Tropical Plants Systematics. 532 pp.
- Moran, R. y Labiak, P. 2015. Phylogeny of the polybotryoid fern clade (Dryopteridaceae). *International Journal of Plant Sciences*. 176: 880-891.
- Moran, R. y Labiak, P. 2016. Phylogeny and character evolution of the Neotropical fern genus *Stigmatopteris* (Dryopteridaceae). *Brittonia*. doi: 10.1007/s12228-016-9437-1.
- Muñiz, M., Mendoza, A. y Pérez, B. 2005. Usos de los helechos y plantas afines. *Etnobiología*. 5: 117-126.
- Nasrullah, A. y Duckett, J. 1991. Dimorphic epidermal cell chloroplasts in the mesophyll-less leaves of an extreme-shade tropical fern, *Teratophyllum rotundifolium* (R. Bonap.) Holtt.: a light and electron microscope study. *New Phytologist* 119: 433-444.
- Ogura, Y. 1972. *Comparative anatomy of the vegetative organs of the Pteridophytes*. Handbuch der Pflanzenanatomie. Borntraeger, Berlín, Alemania. 502 p.
- Paniagua, M. 2005. Caracteres epidérmicos de la lámina foliar de *Llavea cordifolia* Lag. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 77 pp.
- Pérez, M., López, M. y López, A. 2013. *Los helechos (Pteridophyta)*. En: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). *La biodiversidad en Chiapas: Estudio de Estado*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/Gobierno del Estado de Chiapas. México. pp. 103-109.
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycopods and ferns. *Journal of Systematics and Evolution* 54: 563–603.
- Prabhakar, M. 2004. Structure, delimitation, nomenclature and classification of stomata. *Acta Botanica Sinica* 46:242-252.
- Prada, C., Rolleri, C. y Passarelli, L. 2008. Morfología, caracterización y distribución geográfica de *Blechnum cordatum* (Blechnaceae-Pteridophyta). *Acta Botánica Malacitana* 33: 29-46.
- Pryer, K., Schuettpelz, E., Wolf, P., Schneider, H., Smith, A. y Cranfill, R. 2004. Phylogeny and evolution of ferns (Monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences. *American Journal of Botany*. 91: 1582-1598.
- Ramírez, S. y Sánchez, A. 2007. Las pteridofitas del Estado de Hidalgo. *Herreriana Revista de la Divulgación de la Ciencia*. 3: 1-2.
- Resmi, S., Thomas, V. P. y Sreenivas, V. K. 2016. Anatomical studies of selected species of *Adiantum* L. in Kerala. *South Indian Journal of Biological Sciences* 2:115-118.
- Ribeiro, M., Santos, M. y Moraes, M. 2007. Leaf anatomy of two *Anemia* Sw. species (Schizaeaceae-Pteridophyte) from a rocky outcrop in Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 30: 695-702.
- Rodríguez, M. y Lavalle, M. 2011. Estudio morfológico de *Elaphoglossum balansae* C. Chr. (Dryopteridaceae). *Bonplandia* 20: 5-11.

- Rojas, A. A. 2007. Revisión taxonómica del genero *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae, Pteridophyta) para México y Centroamérica. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Metropolitana, México, D.F. 370 pp.
- Rolleri, C., Deferrari, A., y Lavallo, M. 1991. Epidermal morphology of the pinnae of *Angiopteris*, *Danaea*, and *Marattia*. *American Fern Journal*. 81: 44-62.
- Rolleri, C., Lavallo, M., Mengascini, A. y Rodríguez, M. 2001. El género *Marattia* Sw. (Marattiales, Marattiaceae) en el paleotrópico. *Candollea* 56: 97-113.
- Rolleri, C. 2004. Revisión del genero *Danaea* (Marattiaceae- Pteridophyta). *Darwiniana* 42: 217-301.
- Rolleri, C., Prada, C. y Passarelli, L. 2008. Estudios morfológicos y taxonómicos en *Blechnum* (Blechnaceae-Pteridophyta): *B. tabulare* y *B. magellanicum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 65: 179-195.
- Rolleri, C., Prada, C., Passarelli, L. y Gabriel y Galán, J. 2012a. Revisión de dos especies de *Blechnum* de las regiones montañosas e intertropicales de Centroamérica y Sudamérica. *Actes du Colloque Les Fougères d'Alsace, d'Europe et du Monde* 1: 149-161.
- Rolleri, C., Prada, C., Passarelli, L., Gabriel y Galan, J. y Ciciarelli, M. 2012b. Revisión de especies monomorfas y subdimorfas del genero *Blechnum* (Blechnaceae-Pteridophyta). *Botánica Complutensis* 36: 51-77.
- Rouhan, G., Dubuisson, J-Y., Rakotondrainibe, F., Motley, T., Mickel, J., Labat, J-N. y Moran, R. 2004. Molecular phylogeny of the fern genus *Elaphoglossum* (Elaphoglossaceae) based on chloroplast non-coding DNA sequences contributions of species from the Indian Ocean area. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 33: 745-763.
- Roux, J. y Van Wyk, A. 2000. Morphology and anatomy of the rhizome and frond in the African species of *Polystichum* (Pteropsida: Dryopteridaceae). *Bothalia* 30: 57-68.
- Rudall, P. J. 2007. Anatomy of flowering plants: an introduction to structure and development. Cambridge University Press. 145 pp.
- Ruggiero, M., Gordon, D., Orrell, T., Bailly, N. Bourgoin, T., Brusca, R., Cavalier-Smith, T., Guiry, M. y Kirk, P. 2015. A higher level classification of all living organisms. *PLoS ONE*. 10: e0119248.
- Schneider, H., Schuettpelz, E., Pryer, K., Cranfill, R., Magallón, S. y Lupia, R. 2004. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature*. 428: 553-557.
- Schuettpelz, E. y Pryer, K. 2007. Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes. *Taxon*. 56: 1037-1050.
- Sen, U. y Mitra, D. 1966. The anatomy of *Cystodium*. *American Fern Journal* 56: 97-101.
- Sen, U. y De, B. 1992. Structure and ontogeny of stomata in ferns. *Blumea*. 37: 239-261.
- Sessa, E., Zimmer, E. y Givnish, T. 2012. Phylogeny, divergence times, and historical biogeography of New World Dryopteris (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany*. 99: 730-750.
- Simpson, M. 2010. *Plant systematics*. Academic press. 741 pp.

- Skog, J. E., Mickel, J. T., Moran, R. C., Volovsek, M. y Zimmer, E. A. 2004. Molecular studies of representative species in the fern genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae) based on cpDNA sequences rbcL, trnL-F, and rps4-trnS. *International Journal of Plant Sciences*. 165: 1063-1075.
- Smith, A. 1993. *Dryopteridaceae*. En: Flora of North America Editorial Committee (Eds.). 1993. *Flora of North America North of Mexico. Vol. 2. Pteridophytes and gymnosperms*. Oxford University Press, Oxford.
- Smith, A., Pryer, K., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H. y Wolf, P. 2006. A classification for extant ferns. *Taxon* 55: 705–731.
- Smith, A., Pryer, K., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H. y Wolf, P. 2008. *Fern classification*. En: Ranker, T. A. y Haufler, C. H. (Eds.). *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes*. Cambridge University Press. pp. 417-467.
- Stace, C. 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Botany*, Vol. 4. No. 1. 78 p.
- Srivastava, K. 2008. Epidermal features and petiolar anatomy of *Angiopteris evecta* (Forst.) Hoffm. (Marattiaceae: Pteridophyta). *Ethnobotanical Leaflets* 12: 139-149.
- Tejero-Díez, J. D. y Mickel, J. 2004. *Pteridofitas*. En: A.J. García, M.J. Ordóñez y M. Briones. (Eds.) *Biodiversidad de Oaxaca*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 121-139.
- Tejero-Díez, J. D. 2005. Revisión taxonómica del complejo *Polypodium plesiosorum* Kunze (Polypodiaceae, Polypodiophyta). Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D. F. 115 pp.
- Tejero-Díez, J. D., Aguilar, S., Terrazas, T. y Pacheco, L. 2010. Arquitectura y anatomía foliar del complejo *Polypodium plesiosorum* sensu Moran (Polypodiaceae). *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol.)* 58: 955-976.
- Tejero-Díez, J. D., Torres, A., Mickel, J., Mehlreter, K., y Krömer, T. 2011. Helechos y licopodios. En: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). *La biodiversidad en Veracruz: Estudio de Estado. Vol. 2*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Veracruz, Universidad Veracruzana, Instituto de Ecología, A.C. México. 97-114 pp.
- Tejero-Díez, J. D., Torres, A. y Gual, M. 2014. *Licopodios y helechos en el bosque mesófilo de montaña de México*. En: Gual, D. M. y Rendón, C. A. (Comps.). *Bosques Mesófilos de Montaña de México: Diversidad, Ecología y Manejo*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F, pp. 197-220.
- Terán, G., Benavidez, A., Hernández, M. 2009. Anatomía del esporofito de *Doryopteris lorentzii* (Hieron.) Diels (Pteridaceae). *Lilloa* 46: 147-154.
- Tryon, A. F. y Lugardon, B. 1991. *Spores of the Pteridophyta*. New York Springer.
- Umikalsom, Y. 1992. Anatomical studies of the Malaysian Aspleniaceae and Athyriaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 110: 111-119.
- Van Cotthem, W. 1970. A classification of stomatal types. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 63: 235-246.
- Vasco, A., Moran, R. y Ambrose, B. 2013. The evolution, morphology, and development of fern leaves. *Frontiers in Plant Science* 4: 1–16.

- Velásquez, E. 1983. Anatomía comparada de dos especies del género *Tectaria* Cav. (Filicales, Pteridophyta). Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF, México. 62 p.
- Villaseñor, J.L. 2004. Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 75: 105-135.
- Wagner, Jr. W. H. y Smith, A. 1993. *Pteridophytes of North America*. En: Flora of North America Editorial Committee (Eds.). *Flora of North America North of Mexico. Vol. 1. Introduction*. Oxford University Press, Oxford.
- White, R. 1974. Comparative anatomical studies of the ferns. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 61: 379-387.
- Wu, S., Jianying, X., Lu, S., Faguo, W., Xing, F., Dong, S., Hai, H., Zhang, L-B., Barrington, D. y Christenhusz, M. 2013. *Dryopteris*. En: Wu, Z-Y., Raven, P. H. y Hong, D-Y. (eds.) *Flora of China. Vol. 2-3 (Lycopodiaceae through Polypodiaceae)*. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Xing, F., Faguo, W. y Mickel, J. 2013. *Elaphoglossum*. En: Wu, Z-Y., Raven, P. H. y Hong, D-Y. (Eds.) *Flora of China. Vol. 2-3 (Lycopodiaceae through Polypodiaceae)*. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Yatskievych, G. 1996. A revision of the fern genus *Phanerophlebia* (Dryopteridaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 83: 168-199.
- Zavaro, C., Sánchez, C. y Bozán, J. 1995. Anatomía de las especies cubanas del genero *Thelypteris* Schmidel, subgénero *Cyclosorus* Morton. *Fontqueria* 42: 195-198.
- Zhang, L-B. y He, H. 2009. *Polystichum weimingii* sp. Nov. (sect. *Metapolystichum*, Dryopteridaceae) from Southern Yunnan, China. *Systematic Botany* 34: 13-16.
- Zhang, L-B., Zhang, L., Dong, S-., Sessa, E., Gao, X-F. y Ebihara, A. 2012. Molecular circumscriptions and major evolutionary linajes of the fern genus *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *BMC Evolutionary Biology*. 12:180.
- Zhang, L-B. y Barrington, D. 2013. *Polystichum*. En: Wu, Z-Y., Raven, P. H. y Hong, D-Y. (Eds.) *Flora of China. Vol. 2-3 (Lycopodiaceae through Polypodiaceae)*. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Zhang, L-B., Wu, S., Jianying, X., Xing, F., Hai, H., Faguo, W., Lu, S., Dong, S., Barrington, D., Iwatsuki, K., Christenhusz, M., Mickel, J., Kato, M. y Gilbert, M. 2013. *Dryopteridaceae*. En: Wu, Z. Y., Raven, P. H. y Hong, D. Y. (eds.) *Flora of China. Vol. 2-3 (Lycopodiaceae through Polypodiaceae)*. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Zlotnik, A. 1991. Anatomía de Polypodiaceae s. str. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 103 pp.