

00345



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

6

**MORFOGÉNESIS DE LA FASE SEXUAL DE
PTERIDOFITAS MEXICANAS, FAMILIA
DRYOPTERIDACEAE**

T E S I S

294134

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA VEGETAL)**

P R E S E N T A

ANICETO CASIMIRO MENDOZA RUIZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. BLANCA PÉREZ GARCÍA



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



A la memoria del Dr. Ramón Riba Nava y Esparza

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Blanca Pérez-García quien, además de dirigir el trabajo de investigación, siempre me apoyó y motivo para culminar este proyecto de tesis.

También agradezco a los miembros del Comité tutorial: †Ramón Riba y Nava Esparza (Codirector de tesis), Judith Márquez Guzmán y David Díaz Pontones, las observaciones y las sugerencias hechas durante el desarrollo de los trabajos de investigación, así como la revisión crítica de la tesis.

Los Doctores Judith Márquez Guzmán, Blanca Pérez García, David Díaz Pontones, Leticia Pacheco Mota y los Maestros Daniel Tejero Diez, Adolfo Espejo Serna y Ana Rosa López Ferrari formaron parte del jurado del examen de grado e hicieron valiosas sugerencias y comentarios a este manuscrito.

Gracias a los maestros Ana Rosa López Ferrari, Jacqueline Ceja Romero y Adolfo Espejo quienes amablemente leyeron el manuscrito preliminar enriqueciendolo con sus observaciones.

El éxito del trabajo de campo se debe a la participación del "Gran Equipazo" (Ana Rosa, Blanca, Jacqueline, Irma, Adolfo y Ramón) quienes me acompañaron a recolectar el material que se utilizo en el trabajo del laboratorio.

Un reconocimiento especial a los Doctores Carlos Sánchez Villaverde de Cuba y Luis Diego Gómez Pignataro de Costa Rica, que amablemente enviaron esporas de algunas especies de helechos, que fueron de gran utilidad para terminar el trabajo de investigación; al Dr. José Sepúlveda por su ayuda en el procesamiento de las esporas en el Microscopio Electrónico de Barrido y al Sr. Jorge Lodigiani por el apoyo en el procesamiento del material fotográfico.

Un agradecimiento infinito a mis Padres Marcelino y Gavina, y a mis hermanos Ramón, Paty, Toño y Rosa ya que sin su apoyo a lo largo de mis estudios no hubiera logrado llegar a esta meta.

Gracias a Jacqueline por el apoyo incondicional que me ha brindado, impulsandome a seguir adelante y por todos los momentos que hemos compartido juntos.

A mis compañeras y amigas del laboratorio de pteridofitas Irma, Blanca y Rosario por la oportunidad de compartir este trabajo.

A Rosa Cerros, por su amistad incondicional.

Finalmente a todas las personas que de una u otra manera me apoyaron para llevar a buen termino la realización de este trabajo, gracias.

CONTENIDO

Contenido	i
Indice de figuras, tablas y/o cuadros	iii
Resumen	v
Abstract	vi
Introducción	1
<i>Arachniodes</i>	1
<i>Didymochlaena</i>	2
<i>Olfersia</i>	2
<i>Phanerophlebia</i>	3
<i>Stigmatopteris</i>	3
Antecedentes	5
Criterios usados para definir la germinación de las esporas de helechos	6
Patrones de germinación de las esporas de helechos	6
Germinación de tipo bipolar	7
Germinación de tipo tripolar	8
Germinación de tipo amorfo	8
Patrones de desarrollo de los gametofitos de helechos	10
Morfología de los gametofitos adultos	12
Tricomas	13
Órganos sexuales	15
Hipótesis	16
Objetivo principal	18
Objetivos particulares	18
Materiales y métodos	19
Especies recolectadas en el campo (Tabla M1)	20
Substancias requeridas para preparar el medio de cultivo de Thompson (Tabla M2) ...	22
Preparación del medio de cultivo de Thompson (Tabla M3)	22
Resultados	23
Morfogénesis de la fase sexual del helecho <i>Arachniodes denticulata</i> (Dryopteridaceae) .	24

Morfología y anatomía del gametofito de <i>Didymochlaena truncatula</i> (Dryopteridaceae) .	31
Comparative research of gametophyte of <i>Olfersia alata</i> and <i>Olfersia cervina</i> (Dryopteridaceae)	38
Estudio comparativo de la fase sexual del género <i>Phanerophlebia</i> (Dryopteridaceae) ..	49
Morfogénesis de la fase sexual de <i>Stigmatopteris contracta</i> y <i>Stigmatopteris longicaudata</i> (Dryopteridaceae)	64
Discusión y conclusiones	71
Cuadro sintético de resultados	80
Bibliografía	84

FIGURAS, TABLAS Y/O CUADROS

Antecedentes	5
Figura A1. Patrones de germinación de las esporas de helechos homospóricos	9
Figura A2. Patrones de desarrollo protálico de helechos homospóricos	11
Figura A3. Variación en la morfología de los gametofitos de helechos homospóricos ...	12
Figura A4. Diversas formas de los tricomas presentes en los gametofitos	14
Figura A5. Gametangios	15
Material y Método	19
Tabla M1. Especies recolectadas en el campo para el estudio.	20
Tabla M2. Soluciones madre utilizadas para preparar el medio de cultivo de Thompson	22
Tabla M3. Substancias para preparar medio de cultivo de Thompson	22
Resultados	23
Morfogénesis de la fase sexual del helecho <i>Arachniodes denticulata</i> (Dryopteridaceae)	24
Figuras 1-9. Desarrollo protálico de <i>A. denticulata</i>	26
Figuras 10-17. Desarrollo protálico de <i>A. denticulata</i>	28
Cuadro 1. Comparación de las distintas fases de desarrollo protálico de <i>A. denticulata</i> con otros géneros	29
Morfología y anatomía del gametofito de <i>Didymochlaena truncatula</i> (Dryopteridaceae) ...	31
Figuras 1-9. Germinación y fases laminares de <i>D. truncatula</i>	33
Figuras 10-16. Fases laminares y gametangios de <i>D. truncatula</i>	34
Figuras 17-19. Gametangios y esporofito de <i>D. truncatula</i>	35
Comparative research of gametophyte of <i>Olfersia alata</i> and <i>Olfersia cervina</i> (Dryopteridaceae)	38
Figuras 1-9. Esporas, germinación y fases filamentosas y laminares de <i>Olfersia</i>	40
Figuras 10-16. Gametofitos laminares y tricomas secretores de <i>Olfersia</i>	42
Figuras 17-20. Gametofitos adultos y gametangios de <i>Olfersia</i>	43
Tabla 1. Comparación de las distintas fases de desarrollo protálico de <i>Olfersia</i> con otros géneros	46
Estudio comparativo de la fase sexual del género <i>Phanerophlebia</i> (Dryopteridaceae)	49
Cuadro 1. Especies de <i>Phanerophlebia</i> recolectadas en el campo	51

Figuras 1-12. Esporas, germinación y fase filamentosa de <i>Phanerophlebia</i>	53
Figuras 13-20. Diversas etapas de desarrollo de los gametofitos de <i>Phanerophlebia</i>	54
Figuras 21-27. Fase laminares de los gametofitos de <i>Phanerophlebia</i>	56
Figuras 28-35. Gametofitos adultos de <i>Phanerophlebia</i>	57
Figuras 36-43. Gametofitos adultos, tricomas y arquegonios de <i>Phanerophlebia</i>	59
Figuras 44-52. Gametangios y esporofitos de <i>Phanerophlebia</i>	60
Figuras 53-57. Esporofitos y estomas de <i>Phanerophlebia</i>	62
Morfogénesis de la fase sexual de <i>Stigmatopteris contracta</i> y <i>Stigmatopteris longicaudata</i> (<i>Dryopteridaceae</i>)	64
Figuras 1-9. Fase sexual de <i>Stigmatopteris</i>	66
Figuras 10-16. Diversas etapas de desarrollo laminar de <i>Stigmatopteris</i>	67
Figuras. 17-22. Tricomas y esporofitos de <i>Stigmatopteris</i>	69
Discusión y conclusiones	71
Figuras D1 y D2. Gametofitos de <i>Didymochlaena truncatula</i>	75
Figura D3. Tricomas de <i>Arachniodes denticulata</i>	76
Figura D4. Tricomas unicelulares de <i>Phanerophlebia</i>	76
Figuras D5 y D6. Tricomas de <i>Olfersia</i>	76
Figuras D7 y D8. Gametofito y tricomas de <i>Stigmatopteris</i>	77
Tabla D1. Cuadro comparativo para delimitar grupos a nivel género	78
Clave de identificación de gametofitos	78
Tabla D2. Cuadro sintético que resume los resultados de este trabajo	83

RESUMEN: Se realizó un estudio comparativo de las características morfológicas de la fase sexual de las especies de *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching, *Didymochlaena truncatula* (Sw.) J. Sm., *Olfersia alata* C. Sánchez & García Caluff, *O. cervina* (L.) Kunze, *Phanerophlebia auriculata* Underw., *P. gastonyi* Yatsk., *P. juglandifolia* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) J. Sm., *P. macrosora* (Baker) Underw., *P. nobilis* (Schltdl. & Cham.) C. Presl var. *nobilis*, *P. nobilis* (Schltdl. & Cham.) var. *remotispora* (E. Fourn.) Yatsk., *P. pumila* (M. Martens & Galeotti) Fée, *P. umbonata* Underw., *Stigmatopteris contracta* (H. Christ.) C. Chr. y *S. longicaudata* (Liebm.) C. Chr., todas ellas agrupadas dentro de la familia Dryopteridaceae. Este trabajo contribuye al conocimiento de la morfogénesis de la fase sexual de este grupo de plantas, además de que con ello se da una posible delimitación entre estos taxa de acuerdo a sus semejanzas y diferencias. Las especies de las cuales se extrajeron las esporas, fueron recolectadas en diversas localidades del país previamente seleccionadas, de acuerdo con una revisión en los herbarios, de las áreas de distribución de los taxa. De todas las especies incluidas se depositó material de respaldo en el Herbario Metropolitano (UAMIZ) (Cuadro 1, p. 21). Las esporas fueron sembradas en medio de cultivo de Thompson con agar y en macetas que contenían tierra negra. Todas los taxa presentaron esporas monoletes, elipsoidales, el perisporio con ornamentación variada, que va de ligeramente plegada a ampliamente alada. El patrón de germinación en todos los casos fue tipo *Vittaria* y el desarrollo protálico de tipo *Aspidium*, con excepción de *Didymochlaena truncatula* que presentó desarrollo tipo *Adiantum*; los gametangios son similares a los que se presentan en los helechos leptosporangiados homospóricos y los gametofitos adultos son cordiforme-espátulados a cordiforme-reniformes. La mayoría desarrollaron tricomas unicelulares en las fases filamentosas, excepto *D. truncatula*. Las diferencias encontradas entre los taxa estudiados fueron: el tamaño de las esporas, la forma del perisporio, el tiempo de germinación y desarrollo protálico, el tiempo de formación de los gametangios, el tamaño y la forma de los tricomas unicelulares y el tiempo de formación de los esporofitos. Con base en el estudio de los caracteres morfológicos de los gametofitos es posible distinguir cuatro grupos integrados de la siguiente manera: Grupo I por *Didymochlaena* (gametofitos glabros); y el Grupo II por *Arachniodes* y *Phanerophlebia*; Grupo III por *Olfersia* y Grupo IV por *Stigmatopteris* (presentan gametofitos pubescentes); los caracteres que permiten la delimitación de estos grupos son principalmente la ausencia o presencia de tricomas, y la forma y/o el tamaño de los mismos.

ABSTRACT: A comparative study of the morphological characters of the sexual phase of *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching, *Didymochlaena truncatula* (Sw.) J. Sm., *Olfersia alata* C. Sánchez & García Caluff, *O. cervina* (L.) Kunze, *Phanerophlebia auriculata* Underw., *P. gastonyi* Yatsk., *P. juglandifolia* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) J. Sm., *P. macrosora* (Baker) Underw., *P. nobilis* (Schltdl. & Cham.) C. Presl var. *nobilis*, *P. nobilis* (Schltdl. & Cham.) var. *remotisporea* (E. Fourn.) Yatsk., *P. pumila* (M. Martens & Galeotti) Fée, *P. umbonata* Underw., *Stigmatopteris contracta* (H. Christ) C. Chr. y *S. longicaudata* (Liebm.) C. Chr., all included in the Dryopteridaceae family, is presented. The spores were obtained from specimens collected in previously selected localities of the country (square/table 1, p. 21), and the vouchers were deposited at Herbario Metropolitano (UAMIZ). The spores were sown in Thompson medium with agar and in pots with brown ground (brown clay). All species have spores monolete, ellipsoid, and the perispore are ornamented. The germination pattern of all species is of the *Vittaria*-type and also they have an *Aspidium*-type prothallial development; with exception of *Didymochlaena truncatula* that presents an *Adiantum*-type protallial development. In all cases have the characteristics the gametangia present in the homosporous leptosporangiate ferns and adult prothallus are cordate-spatulate to cordate-reniform. All taxa have prothallial trichomes in early stages (germ filaments) of prothallial development with exception of *D. truncatula*. However the taxa present particularities in the next characters: spores size, perispore shape, germination time and prothallial development, development time of gametangia, size, form and position of prothallial hairs and development time of the sporophyte. Based on the results of in this study, I conclude that morphological characters of gametophytes makes possible to distinguish four groups: Group I *Didymochlaena* (gametophytes glabrous); and Group II *Arachniodes* and *Phanerophlebia*; Group III *Olfersia* and Group IV *Stigmatopteris* (gametophytes pubescent), such as delay mainly in naked of present, form, shape, position of trichomes of same.

INTRODUCCIÓN

La familia Dryopteridaceae Herter, agrupa a 16 géneros y a más de 400 especies de helechos homosporicos cosmopolitas (Moran, 1995). En México se presentan los géneros: *Arachniodes*, *Didymochlaena*, *Dryopteris*, *Olfersia*, *Phanerophlebia*, *Polybotrya*, *Polystichum* y *Stigmatopteris*, los cuales han sido estudiados desde el punto de vista taxonómico por Moran (1986, 1987a, 1987b, 1991), Yatskievych (1988, 1990, 1992, 1996) y florísticamente por Riba y Pérez-García (1999).

Con respecto al estudio de la fase haploide del ciclo de vida de estos taxa, se han encontrado trabajos sobre la morfología de los gametofitos de algunos géneros de Asia, India y América, tales como los relativos a los géneros *Arachniodes*, *Cyrtomium*, *Didymochlaena*, *Dryopteris* y *Polystichum* (Atkinson, 1973; Atkinson y Stokey, 1964; Chandra y Nayar, 1970; Cousens, 1975; Kaur, 1977; Pérez-García, et al., 1999 y Stokey y Atkinson, 1954).

A continuación se presenta un descripción general de las características morfológicas de la familia y posteriormente se dan los caracteres particulares para cada género.

Los representantes de la familia se caracterizan por ser plantas terrestres, hemiepífitas o epífitas; su rizoma es erecto con escamas, el cilindro vascular del tallo es de tipo dictiostélico; las hojas carecen de aurículas, son monomorfas o dimorfas, una a varias veces pinnadas; el pecíolo presenta varios haces vasculares y tiene escamas por lo menos en la base; el raquis y el pecíolo son surcados adaxialmente, con los surcos decurrentes en aquellos de orden inferior; los esporangios están dispuestos en la cara dorsal, son acrosticoides o agrupados en soros redondos, oblongos o lineares, indusiados o exindusiados, las esporas son monoletes y su número cromosómico es $n=41$ (Moran, 1995). A continuación se presenta una breve descripción de los géneros incluidos en este estudio.

Arachniodes Blume, es un género conformado por 50 a 55 especies (Tindale, 1961), principalmente asiáticas, con unos cuantos representantes en África y sólo cuatro en América (Morton, 1960) de las cuales sólo *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching, se distribuye desde México (Guerrero, Hidalgo, Puebla, Oaxaca, Veracruz y Chiapas) hasta el sur de Brasil, incluido Cuba y Jamaica. Crece en bosques mesófilos de montaña, bosques de pino, bosques de pino-encino y vegetación secundaria derivada de los mismos, en altitudes que van de los 1,200 a los 2,900 m s.n.m. Son plantas terrestres con el rizoma erecto o decumbente, el pecíolo de $\frac{1}{2}$ a 2 veces más largo que la lámina, la cual mide

de 15 a 35 cm largo, es 3-5 pinnada, firme y cartácea a subcoriácea. Las esporas son monoletes con perisporio y el número cromosómico es $n=41$ (Gibby *et al.*, 1992; Moran, 1995; Morton, 1960 y Tindale, 1961).

Didymochlaena Desv., es un género monotípico de amplia distribución; en América *D. truncatula* (Sw.) J. Sm., se distribuye desde el sur de México (Puebla, Veracruz, Chiapas y Oaxaca) hasta el sur de Panamá, en las Grandes Antillas (excepto Jamaica) y en el sureste de Brasil. También se le encuentra en regiones tropicales del este y el sureste de África, en la India, en la región de los Himalayas, en China, en Japón, en Malasia y en Australia. Esta especie crece en selvas altas y en bosques húmedos, entre los 100 y los 1,000 m s.n.m. y raramente alcanza los 2,300 m s.n.m. Las plantas de este taxon se caracterizan por tener las hojas monomorfas, bipinnadas, con el ápice conforme parecido a las pinnas laterales, las pínulas son dimidiadas, los soros tienen indusios alargados y redondeados en el extremo distal, están distribuidos en ambos lados de la nervadura y curvados alrededor de su ápice; las esporas son monoletes; el número cromosómico es $n=41$ (Mickel y Beitel, 1988; Moran, 1995; Tryon y Tryon, 1982; Underwood, 1899).

Olfersia Raddi, género con dos especies, *Olfersia alata* C. Sánchez & García Caluff y *O. cervina* (L.) Kunze.

O. alata es endémica de Cuba y se caracteriza por poseer dimensiones menores con respecto a *O. cervina*, por sus hojas estériles menos robustas, y por la presencia de un ala o margen decurrente en la base de todas las pinnas estériles, esta especie crece en bosques mesófilos de montaña entre los 350 y los 400 m snm. (Sánchez *et al.*, 1991). *O. cervina* (L.) Kunze está ampliamente distribuida en los trópicos del mundo. En América se le encuentra desde el sur de México (Veracruz, Oaxaca y Chiapas) hasta el sureste de Brasil y en las Antillas Mayores. A diferencia de *O. alata*, carece de un ala en la base de las pinnas estériles que son cortamente pecioladas y son en general plantas más robustas y grandes. Crece entre los 450 y los 1,000 m s.n.m., en bosques húmedos tropicales, sobre taludes rocosos muy sombreados (Moran, 1986).

Ambos taxa se caracterizan por ser plantas terrestres, raramente hemiepífitas, con los tallos cortamente rastreros, las hojas marcadamente dimorfas, los soros exindusiados lineares a oblongos, las esporas monoletes, equinuladas y con el perisporio ampliamente desarrollado.

Phanerophlebia C. Presl, es un género con ocho especies y dos variedades, circunscritas a los trópicos del continente americano. *Phanerophlebia* ha sido incluido ocasionalmente dentro del género asiático *Cyrtomium* C. Presl, sin embargo, aparentemente ambos géneros se han derivado independientemente de *Polystichum* Roth, en América y Asia respectivamente, por lo que en el presente trabajo sólo será objeto de estudio el género americano. En México se presentan siete especies y dos variedades (*Phanerophlebia auriculata* Underw., *P. gastonyi* Yatsk., *P. juglandifolia* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) J. Sm., *P. macrosora* (Baker) Underw., *P. nobilis* (Schltld. & Cham.) C. Presl var. *nobilis*, *P. nobilis* (Schltld. & Cham.) var. *remotispora* (E. Fourn.) Yatsk., *P. pumila* (M. Martens & Galeotti) Fée, *P. umbonata* Underw.)

Este grupo de plantas, se distribuye desde el sur de los Estados Unidos hasta América Central, en Venezuela y en Hispaniola. En México se les encuentra en los estados de Chihuahua, Sonora, Sinaloa, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Jalisco, Michoacán, Querétaro, Hidalgo, Guerrero, Morelos, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, Oaxaca y Chiapas. Crecen entre los 800 y los 3,200 m s.n.m., en bosques de pino-encino, bosques mesófilos de montaña y selvas altas perennifolias.

Todas las especies se caracterizan por ser plantas terrestres, perennes; con rizoma corto, postrado a erecto, a veces ramificado, escamoso, cubierto con raíces adventicias y con las bases de los pecíolos persistentes; las hojas son monomorfas, cartáceas a subcoriáceas; el raquis y la costa por lo común algo escamosos, sulcados adaxialmente; las pínulas son asimétricas, subcordiformes a cuneadas en la base, a veces con una aurícula basal acroscópica, espinuloso-serrulada en el margen; los soros son terminales o aparentemente laterales y se localizan sobre las venas en 1, 2 ó 4 series entre la costa y el margen, sus esporas son monoletes, de color pardo oscuro, el perisporio presenta pliegues prominentes y el número cromosómico es $n=41$ (Yatskievych, 1996).

Stigmatopteris C. Chr., este género tiene 25 especies, que se distribuyen desde el sureste de México (Chiapas, Oaxaca, Puebla, Veracruz) hasta el sureste de Brasil y en las Antillas. En México se encuentran tres especies *S. chimalapensis* Mickel & Beitel, *S. longicaudata* (Liebm.) C. Chr. y *S. sordida* (Maxon) C. Chr., las cuales habitan en bosques mesófilos de montaña y selvas altas perennifolias, entre los 150 y los 2,000 m s.n.m. La característica más sobresaliente de este género es la presencia de glándulas internas puntiformes en la lámina; además, todas las especies presentan soros exindusiados redondeados a ligeramente oblongos y nervaduras que terminan antes del margen en un ápice claviforme, láminas que carecen de tricomas, con excepción de los surcos en el lado

adaxial de los ejes de rizomas cortamente rastreros y de láminas 1-pinnado pinnatífidas. El número cromosómico es $n = 41$ (Moran, 1995).

ANTECEDENTES

Los helechos presentan en su ciclo de vida alternancia de generaciones; la fase esporofítica y la fase gametofítica. Este estudio se ha enfocado a esta última fase, la cual está representada por un organismo fotosintético simple, capaz de desarrollarse normalmente en cultivo. Su tamaño pequeño permite una manipulación fácil y la obtención de un gran número de individuos para estudios en distintas disciplinas tales como la Bioquímica (obtención y purificación de enzimas, obtención de pigmentos, determinación de proteínas, ácidos nucleicos, etc.), la Ecología de Poblaciones, la Genética, la Microbiología, la Taxonomía, etc. (Miller, 1968).

El cultivo del gametofito de helechos en el laboratorio, ha llamado la atención de los botánicos experimentales durante muchos años, ya que provee de material biológico importante para la investigación en una amplia gama de disciplinas, debido a sus características adaptativas únicas y a su valor taxonómico; las ventajas que presentan los prótalos de helechos para estudios experimentales fueron reconocidas desde hace mucho tiempo y en los últimos tiempos han sido objeto de estudios intensivos que destacan las bondades de estas plantas como material experimental (Näf, 1962; Miller, 1968; Voeller, 1971; Raghavan, 1973; Pérez-García y Riba, 1998).

En el campo de la taxonomía, los caracteres morfológicos de los gametofitos han sido sólo parcialmente utilizados, probablemente porque algunas características de su desarrollo no son constantes bajo las variadas condiciones de cultivo usadas (Atkinson, 1973; Mendoza *et al.*, 1999a; Nayar y Kaur, 1971). Pero de acuerdo con literatura consultada se ha confirmado que los caracteres morfológicos de la fase gametofítica han sido útiles para delimitar familias, como es el caso de Grammitidaceae y Schizaeaceae, o bien de géneros como *Oleandra*, *Nephrolepis*, *Davallia* y *Humata* (Atkinson, 1973).

Con respecto al estudio de la morfogénesis de la fase sexual de las especies de la familia Dryopteridaceae, se han realizado trabajos principalmente para algunos grupos del Viejo Mundo como *Arachniodes*, *Cyrtomium*, *Didymochlaena*, *Dryopteris* y *Polystichum* (Atkinson, 1973; Atkinson y Stokey, 1964; Chandra y Nayar, 1970; Cousens, 1975; Kaur, 1977 y Stokey y Atkinson, 1954); y para algunos taxa del Nuevo Mundo como *Arachniodes*, *Didymochlaena* y *Dryopteris* (Mendoza *et al.*, 1999a, 1999b y Pérez-García *et al.*, 1999).

En el estudio de los gametofitos de helechos son varios los parámetros a considerar (criterios para la definición de la germinación de las esporas, patrones de germinación, tipos de desarrollo protálico

y formas adultas), de los cuales se da una breve descripción.

Criterios usados para definir la germinación de las esporas de helechos

Para definir el inicio de la germinación de una espora en el grupo de los helechos, se han propuesto varios criterios por diversos autores:

- a) La germinación inicia con la imbibición, hinchamiento y ruptura del exosporio (Weinberg y Voeller, 1969).
- b) Idealmente la germinación inicia con la primera mitosis de la espora que va a dar origen a la primera célula rizoidal y a la primera célula protálica (Miller, 1968).
- c) El rompimiento de la cubierta de la espora marca el inicio de la germinación (Miller, 1968).
- d) La germinación inicia cuando emerge la primera célula rizoidal y/o protálica o ambas. Este último criterio se considera como el más confiable a utilizar, ya que evidentemente se observa el inicio de la germinación de la espora (Miller, 1968; Mendoza, *et al.* 1996-1997).

Patrones de germinación de las esporas de helechos

En la mayoría de los helechos homospóricos, la germinación de la espora produce un rizoide primario, seguido de un filamento germinal pluricelular y uniseriado. Momose (1942) y Nishida (1965) clasifican los patrones de germinación de las esporas con base en la relación espacial (posición relativa) de las células basal, protálica y rizoidal primaria. Nayar y Kaur (1968, 1969, 1971) y Raghavan (1989) establecen varios criterios sobre los patrones de germinación y desarrollo protálico, basándose en los planos de división celular y en la dirección del crecimiento del rizoide y de la célula protálica, los cuales sugieren tres categorías que incluyen varios tipos de germinación.

a) **Germinación de tipo bipolar:** es el más avanzado evolutivamente hablando y se encuentra en las Polypodiaceae s.l. En todos los tipos de germinación de esta categoría, la primera división celular se da por la formación de una pared paralela al plano ecuatorial, el alargamiento del rizoide primario y el gametofito joven es paralelo al eje polar de la espora el cual incluye a los siguientes tipos de germinación (Figs. A1, a 1-25).

Tipo *Ceratopteris*: la primera división da lugar al rizoide inicial que es perpendicular al eje polar de la espora, la segunda división produce un filamento inicial en el mismo plano que el rizoide pero orientado en sentido opuesto, esta segunda división es perpendicular a la primera; la secuencia de divisiones es idénticas al tipo *Vittaria* pero la orientación de la célula hija formada es opuesta (Figs. A1, a 1-4)

Tipo *Dicksonia*: el rizoide inicial se forma por una pared paralela al eje polar de la espora y el filamento germinativo crece a lo largo del eje polar, mientras que el rizoide inicial crece a lo largo del plano ecuatorial (Figs. A1, a 17-20).

Tipo *Gleichenia*: en la germinación se forma lateralmente un rizoide inicial por una pared paralela al eje polar de la espora, y posteriormente una serie de divisiones en la célula protálica inicial por paredes paralelas a la primera da como resultado el filamento germinal uniseriado. El filamento germinal y la célula rizoidal se alargan a lo largo del plano ecuatorial de la espora en direcciones opuestas (Figs. A1, a 21-25).

Tipo *Lygodium*: muestra un patrón en el cual la primera división celular de la espora es perpendicular al eje polar, seguida por una división de la célula proximal por una pared paralela al eje polar, resulta en la formación del filamento inicial y de una célula intermedia; el rizoide inicial se forma a través de la división de la célula intermedia en forma de cuña que se encuentra entre el rizoide y la protálica inicial (Figs. A1, a 5-8).

Tipo *Osmunda*: característico la familia Osmundaceae, en donde en estados tempranos la primera división da lugar al rizoide inicial que es perpendicular al eje polar de la espora y la segunda división produce un filamento inicial en el mismo plano que el rizoide pero orientado en sentido opuesto, esta

segunda división es paralela a la primera (Figs. A1, a 13-16).

Tipo *Vittaria*: la primera división da lugar al rizoide inicial que es perpendicular al eje polar de la espora, la segunda división produce un filamento inicial en el mismo plano que el rizoide pero orientado en sentido opuesto, esta segunda división es perpendicular a la primera (Figs. A1, a 9-12).

b) **Germinación de tipo tripolar**: se encuentra en familias como Gleicheniaceae, Cyatheaceae e Hymenophyllaceae. La primera división celular se da por la formación de una pared paralela al eje polar de la espora y más tarde el alargamiento y división del gametofito ocurre en tres direcciones y se presenta en los siguientes tipos de germinación (Figs. A1, b 1-12).

Tipo *Hymenophyllum*: este tipo de germinación es básicamente tripolar, todas las divisiones celulares de la espora son paralelas al eje polar. Las primeras dos paredes son perpendiculares entre sí y dividen a la espora en una lámina ecuatorial expandida de tres células iguales. En cada una de estas células se forma una célula hija lenticular hacia el centro de la pared lateral periférica. Cada célula lenticular puede crecer en un rizoide o en un filamento germinal; en fases subsecuentes hay una serie de divisiones por paredes paralelas a la última pared formada (Figs. A1, b 1-4).

Tipo *Mecodium*: no sólo se dan las dos primeras divisiones del tipo *Hymenophyllum* el cual persiste, sino que adicionalmente ocurren más divisiones en cada una de las tres células de modo que la lámina formada tiene 9-12 células expandidas a lo largo del plano ecuatorial de la espora en germinación (Figs. A1, b 5-9).

Tipo *Trichomanes*: la característica que distingue este tipo de germinación, es la aparente ausencia de las dos primeras divisiones establecidas en el tipo *Hymenophyllum*, de modo que la espora se divide directamente en tres células, de las cuales una se desarrolla en un rizoide y las dos restantes en la lámina protálica (Figs. A1, b 10-12).

c) **Germinación de tipo amorfo**: restringida a grupos más primitivos como Schizaeaceae, Marattiaceae y Ophioglossaceae. La división celular y la dirección del crecimiento se efectúan en diversos planos y el resultado es una masa amorfa de células, en lugar de un filamento germinativo

uniseriado; este tipo de germinación no se ilustra en este trabajo.

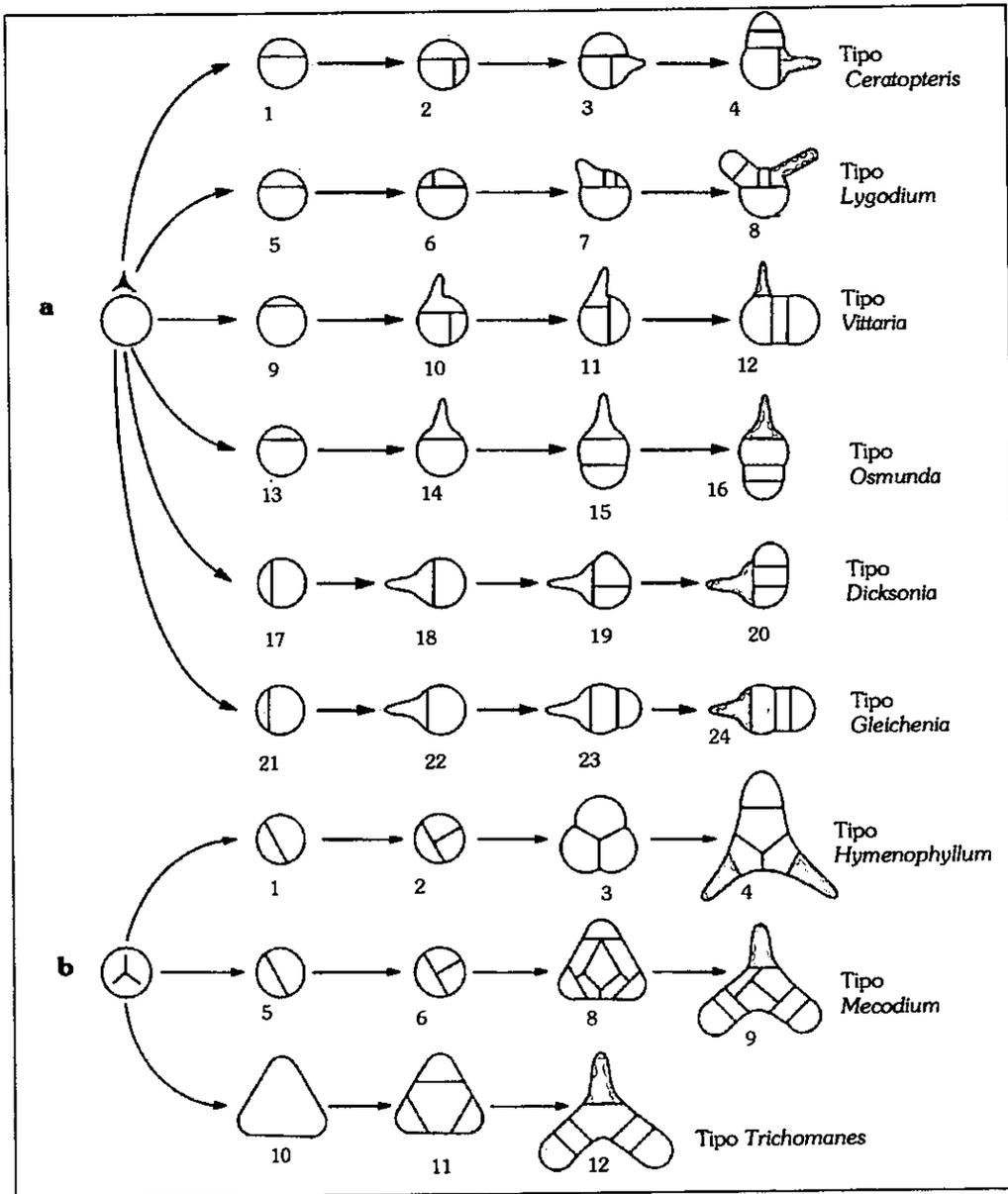


Fig. A1. Esquema ilustrando los diferentes patrones de germinación de las esporas de helechos homosporicos. a) germinación bipolar : tipo *Ceratopteris* (a 1-4); tipo *Lygodium* (a 5-8); tipo *Vittaria* (a 9-12); tipo *Osmunda* (a 14-16); tipo *Dicksonia* (a 17-20); tipo *Gleichenia* (a 21-24). b) germinación tripolar: tipo *Hymenophyllum* (b 1-4); tipo *Mecodium* (b 5-9); tipo *Trichomanes* (b 10-12). (Tomado de Raghavan, 1989; modificado por Mendoza). ○ = células protálicas, ⊙ = rizoide.

Patrones de desarrollo de los gametofitos de helechos

Nayar y Kaur (1969) reconocen siete tipos de desarrollo protálico en los helechos homospóricos, los cuales se describen a continuación y se ilustran en la figura A2.

Tipo *Adiantum*: se caracteriza por la formación de una célula meristemática en etapas tempranas del desarrollo de los prótalos, la cual es reemplazada posteriormente por un meristemo pluricelular (Figs. A2: 8-17).

Tipo *Aspidium*: se caracteriza por las secuencias de divisiones celulares variables, además de que en etapas tempranas del desarrollo protálico se produce la formación de tricomas. La formación de la lámina resulta de las células intercalares del filamento germinativo (Figs. A2: 28-40).

Tipo *Ceratopteris*: la formación de la lámina protálica se inicia por la división longitudinal de las células anteriores del filamento germinal, el meristemo se forma a partir de un grupo de células marginales de la lámina y es de posición lateral (Figs. A2: 8, 11, 18-19, 21-24).

Tipo *Drynaria*: se caracteriza porque el establecimiento de la célula meristemática es muy retardado y los prótalos, generalmente en la etapa adulta, desarrollan tricomas marginales y superficiales (Figs. A2: 8, 11, 18-20, 15-17).

Tipo *Kaulinia*: se caracteriza porque después de la formación del filamento germinativo se forma una lámina ancha, espatulada y amerística (no hay diferenciación de un meristemo organizado), los prótalos con el tiempo se alargan gradualmente adquiriendo la forma de una cinta, la cual puede ramificarse irregularmente y en donde no hay un cojinete bien definido (Figs. A2: 8, 11, 18-19, 25-27).

Tipo *Marattia*: la germinación de la espora da lugar a una lámina pluricelular ovalada o circular, que rápidamente adquiere más de una célula de grosor; la lámina se expande por la actividad meristemática difusa y posteriormente se diferencia una célula meristemática obcónica, que es reemplazada por un meristemo pluricelular (Figs. A2: 6-7, 15-17).

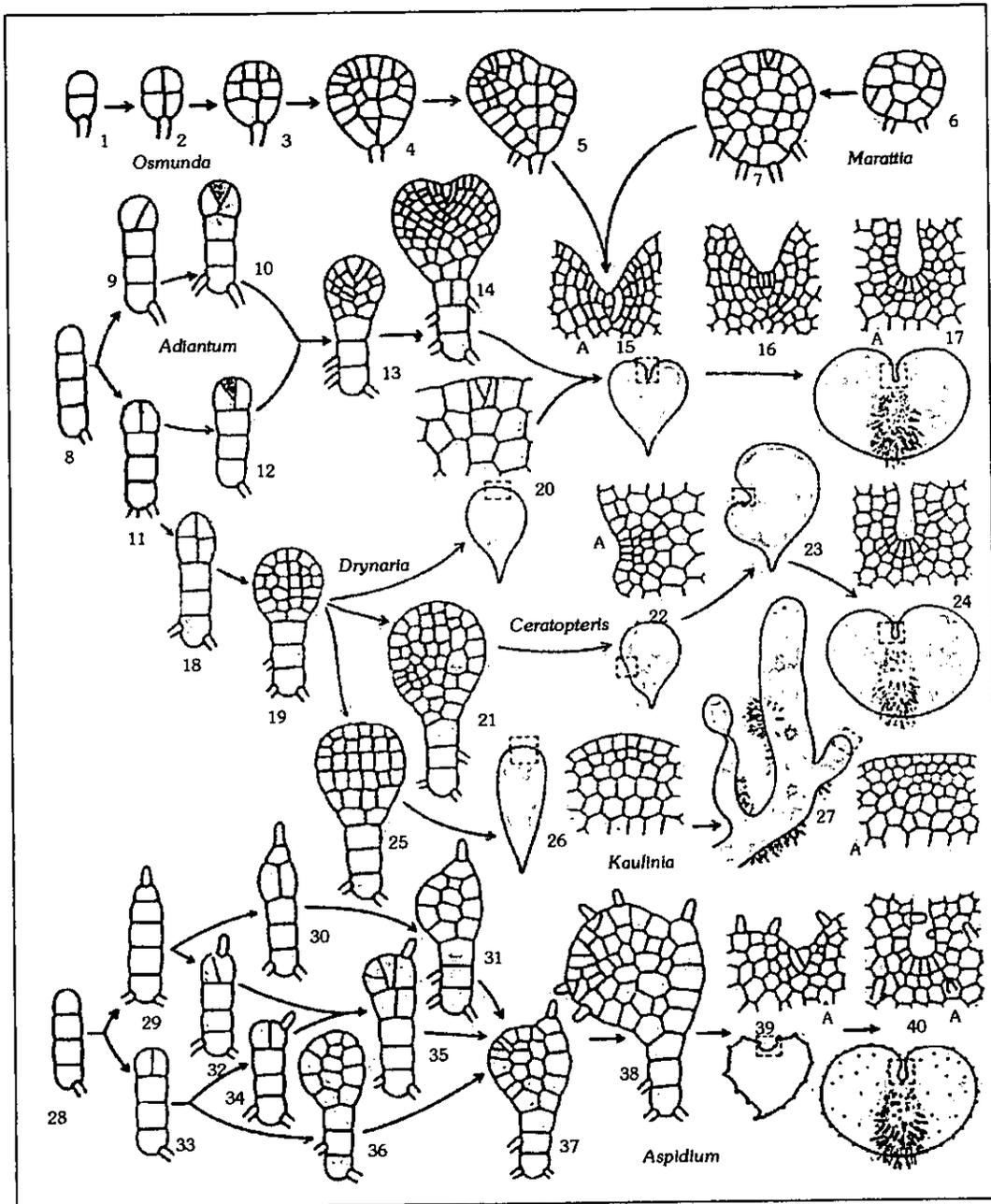


Fig. A2. Diagrama ilustrando los diferentes patrones de desarrollo de helechos homospóricos: tipo *Osmunda* (Figs. 1-5, 15-17), tipo *Marattia* (Figs. 6, 7, 15-17), tipo *Adiantum* (Figs. 8-17), tipo *Drynaria* (Figs. 8, 11, 18-20, 15-17), tipo *Ceratopteris* (Figs. 8, 11, 18-19, 21-24), tipo *Kaulinia* (Figs. 8, 11, 18, 19, 25-27), tipo *Aspidium* (Figs. 28-40). A= acercamiento de la zona meristemática (Tomado de Nayar y Kaur, 1971).

Tipo *Osmunda*: se caracteriza porque el filamento está formado por dos células, las cuales se dividen longitudinalmente formando una placa de cuatro células que finalmente se desarrolla en un protalo (Figs. A2: 1-5, 15-17).

Morfología de los gametofitos adultos

En lo referente a su morfología adulta, el gametofito de los helechos presenta una gran variabilidad, pero en general se reconocen ocho formas de talos adultos (algunas ilustradas en la Fig. A3).

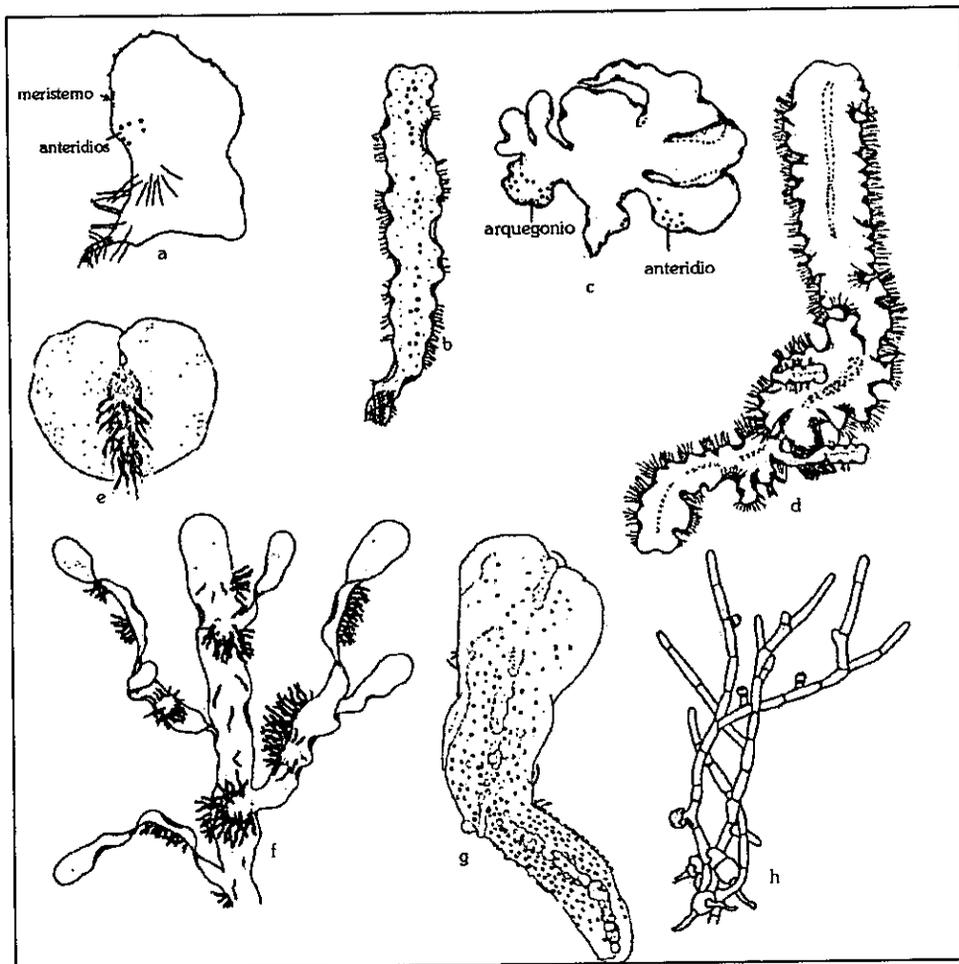


Fig. A3. Variación en la morfología de los gametofitos adultos: a) gametofito asimétrico, b) gametofito acintado angosto, c) gametofito cordiforme ramificado, d) gametofito en forma de listón, e) gametofito cordiforme, f) gametofito en forma de listón ramificado, g) gametofito tuberoso, h) gametofito filamentosos (Tomado de Raghavan, 1989).

Gametofito asimétrico: gametofito con alas asimétricas presente en *Anemia* (Fig. A3, a).

Gametofito acintado angosto: es un gametofito muy alargado y con alas no desarrolladas, presente en *Loxogramme* y *Vittaria* (Fig. A3, b).

Gametofito cordiforme ramificado: gametofito con alas muy divididas y sin un cojinete bien diferenciado, presente en *Vittaria* (Fig. A3, c)

Gametofito en forma de listón: gametofito muy alargado con alas poco desarrolladas y un cojinete poco desarrollado, se encuentra en *Peltapteris* (Fig. A3, d).

Gametofito cordiforme: gametofito simétrico, con alas de igual tamaño y un cojinete bien desarrollado, es el más común y está ampliamente representado en géneros de helechos avanzados como en *Adiantum* y *Pteris* (Fig. A3, e).

Gametofito en forma de listón ramificado: gametofito con la lámina muy alargada, alas poco desarrolladas y está muy ramificado, se presenta en *Paraleptochilus* (Fig. A3, f).

Gametofito tuberoso: gametofito cilíndrico subterráneo, es el más primitivo y se presenta en *Ophioglossum* y *Gleichenia* (Fig. A3, g).

Gametofito filamentosos: gametofito ramificado uniseriado alargado, no se forman alas ni cojinetes, característico de *Schizaea* e *Hymenophyllum* (Fig. A3, h).

Tricomas

Una gran parte de los gametofitos de los helechos carecen de tricomas, sin embargo en ciertas familias la presencia, así como la posición y la forma que éstos presentan son importantes. Pueden ser de posición marginal o superficial (en una sola cara o en ambas) y de diversos tipos (unicelulares, bicelulares o multicelulares, aciculares, bifurcados, Fig. A4). Los tricomas, en algunas especies, no tiene

ningún tipo de secreción, o al menos no es visible, pero en otras es tan abundante que el talo aparece como moteado con manchas blancas. Esta secreción puede ser más o menos viscosa y puede desprenderse como una unidad. Algunas de estas secreciones presentan reacción al Sudán III lo que indica la presencia de sustancias grasas. Con los conocimientos actuales es posible precisar el valor de los tricomas como un auxiliar taxonómico y probablemente como sucede a nivel del esporofito, este carácter puede ser importante en algunos casos y en otros no (Fig. A4).

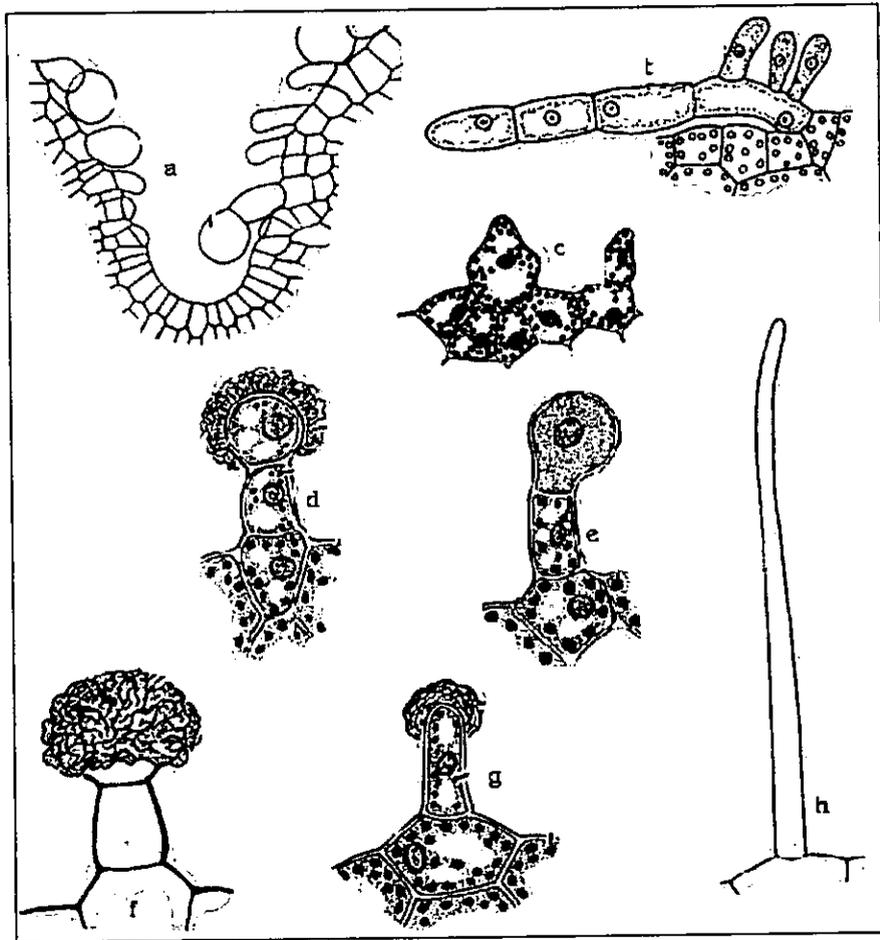


Fig. A4. Diversas formas de tricomas: a) posición de los tricomas en el margen de los gametofitos, b) tricomas multicelulares, c) tricoma unicelular con cloroplastos, d) tricoma bicelular con una capa de secreción extracelular y con cloroplastos, e) tricoma bicelular con cloroplastos en la célula basal, f) tricoma bicelular con secreción extracelular, g) tricoma unicelular, h) tricoma acicular (tomado de Nayar y Kaur, 1971).

Órganos sexuales

En lo que respecta a los órganos reproductivos (gametangios), en los helechos leptosporangiados los arquegonios (♀) muestran una morfología muy uniforme, todos tienen cuatro hileras de células, cada una está formada por 4 a 6 células de longitud (Fig. A5, a, b). Pero en el caso de los anteridios (♂), el número de células puede variar de 3 a más de 5, así como la forma de los mismos (Fig. A5, c, d, e).

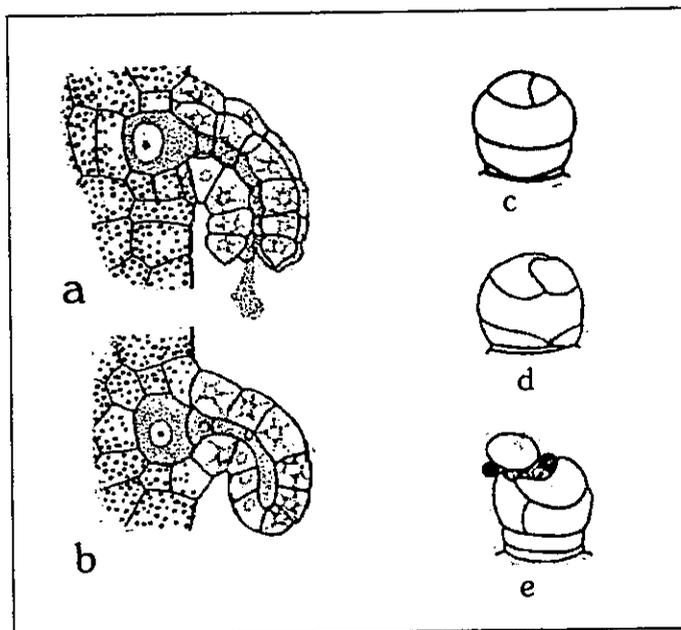


Fig. A5. Gametangios: a y b) cuellos de arquegonios, c) anteridio con cuatro células, d) anteridio con seis células, e) anteridio con cinco células y un opérculo (tomado de Nayar y Kaur, 1971).

Finalmente se han encontrado en la literatura que la mayoría de los gametofitos de algunos géneros de helechos de Asia, India y América, tales como *Arachniodes*, *Cyrtomium*, *Didymochlaena*, *Dryopteris* y *Polystichum* (Atkinson, 1973; Atkinson y Stokey, 1964; Chandra y Nayar, 1970; Cousens, 1975; Kaur, 1977; Pérez-García *et al.*, 1999 y Stokey y Atkinson, 1954), todos ellos colocados dentro de la familia Dryopteridaceae, presentan una germinación tipo *Vittaria* y un desarrollo protálico tipo *Aspidium*, desarrollan tricomas unicelulares con capas de secreción extracelular, los gametofitos adultos son cordiforme-espatulados a cordiforme-reniformes y los anteridios presentan 3 o 4 células.

HIPÓTESIS

La circunscripción taxonómica de los helechos en sus distintos niveles de clasificación, se ha establecido con base en los caracteres morfológicos del esporofito. Sin embargo, de acuerdo con la literatura, se ha confirmado que a partir de un estudio morfológico comparativo de los gametofitos, se pueden obtener evidencias para resolver problemas de relaciones taxonómicas entre los grupos; según Atkinson (1973) estas evidencias se pueden encontrar en el patrón de germinación, en el tipo de desarrollo de la lámina, en la posición de la zona meristemática, en la forma del gametofito adulto; en el tipo, la posición y el tiempo de aparición de los tricomas cuando éstos están presentes y en la forma y el número de células del anteridio. Con estas características se pueden establecer las relaciones dentro de una familia, demostrar la integridad o coherencia de un género o bien considerar la conveniencia de combinar grupos de géneros y/o resolver problemas de delimitación de géneros y especies.

A manera de ejemplo: en la familia Osmundaceae, de la cual se conocen los gametofitos de todos los géneros que la integran (Stokey y Atkinson, 1956), se ha observado que no hay variación significativa en la morfología del gametofito entre las distintas especies de los géneros. En el caso de la familia Schizaeaceae los gametofitos son tan diferentes como sus esporofitos (Britton y Taylor, 1901; Rogers, 1923, 1927; Atkinson, 1960, 1962), aunque todos presentan anteridios con las mismas características. Por otro lado, se ha visto que los gametofitos de diferentes especies del género *Blechnum* procedentes de Nueva Zelanda, presentan diferencias claras entre ellos. *Blechnum vulcanicum* (Blume) Kuhn presenta tricomas simples clorofílicos y con secreción escasa, a diferencia *Blechnum capense* (L.) Schlecht., *B. colensoi* Col., *B. discolor* (Forst. f.) Keyes, que no presentan tricomas. Por lo que la presencia o ausencia de los tricomas puede llegar a diferenciar las especies dentro de un mismo grupo.

Aun cuando una hipótesis esté suficientemente probada, una mayor evidencia la hará consistente. "Por lo que se considera que los gametofitos de los helechos son una entidad de considerable valor en el estudio de las relaciones entre los helechos, pues poseen estructuras variadas y útiles que sugieren afinidades; algunas veces a nivel de familia pero, probablemente, de manera más frecuente entre géneros y especies" (Atkinson, 1973).

Por lo anterior, con este trabajo se pretende verificar que, si las características morfológicas del gametofito tienen implicaciones taxonómicas, entonces el estudio de la morfología de los gametofitos de la familia Dryopteridaceae permitirá apoyar la delimitación taxonómicas de los géneros y las especies al interior de la familia propuestas por los taxónomos con base en la morfología del esporofito.

OBJETIVO GENERAL

- ☼ Contribuir al conocimiento de la fase sexual de algunos géneros y especies de pteridofitas mexicanas de la familia Dryopteridaceae, mediante el estudio y la definición de los procesos morfológicos de la germinación y el desarrollo de los gametofitos, así como definir los similitudes y diferencias entre ellos, para confirmar o no su posible delimitación taxonómica.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Conocer los patrones de germinación y desarrollo protálico, así como las características morfológicas de la fase sexual de *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching.
- 2) Conocer los patrones de germinación y desarrollo protálico, así como las características morfológicas de la fase sexual de *Didymochlaena truncatula* (Sw.) J. Sm.
- 3) Conocer los patrones de germinación y desarrollo protálico, así como las características morfológicas de la fase sexual *Olfersia alata* C. Sánchez & García Caluff y *Olfersia cervina* (L.) Kunze.
- 4) Conocer los patrones de germinación y desarrollo protálico, así como las características morfológicas de la fase sexual de *Phanerophlebia auriculata* Underw., *Phanerophlebia gastonyi* Yatsk., *Phanerophlebia juglandifolia* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) J. Sm., *Phanerophlebia macrosora* (Baker) Underw., *Phanerophlebia nobilis* (Schltdl. & Cham.) C. Presl variedad *nobilis*, *Phanerophlebia nobilis* (Schltdl. & Cham.) variedad *remotispora* (E. Fourn.) Yatsk., *Phanerophlebia pumila* (M. Martens & Galeotti) Fée, *Phanerophlebia umbonata* Underw.
- 5) Conocer los patrones de germinación y desarrollo protálico, así como las características morfológicas de la fase sexual de *Stigmatopteris contracta* (Maxon) C. Chr y *Stigmatopteris longicaudata* (Liebm.) C. Chr.
- 6) Con base en las características morfológicas de los gametofitos estudiados, confirmar o no la delimitación taxonómica de los géneros y las especies de esta familia propuesta por los taxónomos con base en la morfología del esporofito.
- 7) Definir, mediante el análisis de semejanzas y diferencias de los gametofitos, los grados de afinidad entre los géneros y las especies estudiadas.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizaron varios viajes de recolección a localidades previamente seleccionadas, en distintos estados del país (Cuadro 1), con el fin de recolectar las plantas fértiles de los diversos taxa en estudio, y así obtener esporas viables para realizar el trabajo de laboratorio. Todos los ejemplares de respaldo se encuentran depositados en el Herbario Metropolitano "Dr. Ramón Riba y Nava Esparza" (UAMIZ).

Las pinnas fértiles se guardaron en bolsas de papel hasta la liberación de las esporas. Posteriormente éstas se tamizaron con una malla metálica con poros de 0.074 mm de diámetro, para eliminar restos de esporangios e indusios. Las esporas de cada especie fueron sembradas en 20 cajas de Petri de cinco cm de diámetro, que contenían agar y medio de cultivo de Thompson (Cuadro 2-3; Klekowski, 1969; Pérez-García, 1989) previamente esterilizado; así como también en pequeñas macetas con tierra negra y materia orgánica (3 macetas por especie). Las esporas fueron esparcidas con un pincel de pocas cerdas sobre la superficie de los medios de cultivo utilizados, con una densidad promedio de 150-200 esporas por cm². Cabe mencionar que se realizaron tres réplicas para cada especie con un intervalo de tiempo de tres meses entre cada siembra.

Las cajas y macetas fueron colocadas dentro de bolsas de plástico transparente, para evitar contaminación y desecación. Los cultivos se mantuvieron en un estante tipo esqueleto, con régimen lumínico artificial de 12 hrs. luz/oscuridad (para la cual se utilizaron lámparas de 75 watts, luz de día), con una temperatura que osciló entre los 22-25 °C (Mendoza *et al.*, 1996-1997, 1999a).

Los cultivos se abrieron periódicamente para realizar las observaciones y poder determinar el inicio de germinación de las esporas y hacer un seguimiento de las distintas fases de desarrollo de los gametofitos de las especies estudiadas.

Todas las fotomicrografías fueron tomadas de material vivo y/o fijado, cultivado en condiciones de laboratorio.

Tabla M1. Especies recolectadas en el campo.

Taxa	No. de colecta	Localidades	Vegetación/ Altitud
<i>Arachniodes denticulata</i>	AMR-193	La Montaña, 5 km al norte de Tlanchinol rumbo a Huejutla, Mpio. de Huejutla de Reyes, Hidalgo.	BMM, 1500 m
	AMR-252	1 km después de Paz de Enríquez, rumbo a Misantla, Mpio. Yecuatla, Veracruz.	BMM, 1680 m
	AMR-282	Campamento Vista Hermosa, carretera Oaxaca-Tuxtepec, Mpio. San Juan Comaltepec, Oaxaca.	BMM, 1440 m
<i>Didymochlaena truncatula</i>	AMR-142 AMR-205	Península de Moreno (Coyame), 3.5 km al este de Tebanca, Mpio. de Catemaco, Veracruz.	SAP, 450 m
<i>Olfersia alata</i>	CSV-77825	Cimas y laderas de los mogotes de la izquierda y río de Farallón Redondo y La Escondida, Mpio. de Mua Farallones, Prov. Holguín, Cuba.	BMM, 350 m
<i>O. cervina</i>	AMR-202 AMR 251	Lote 69 de la Estación Biológica Los Tuxtlas, entre Laguna Azul y Laguna Seca, Mpio. de San Andrés Tuxtla, Veracruz.	SAP, 120 m
<i>Phanerophlebia auriculata</i>	AMR-296	Ca. 10 km después de Zaragoza, rumbo a La Encantada, Mpio. Gral. Zaragoza, Nuevo León.	BEP, 2200 m
<i>P. gastonyi</i>	AMR-248	Ca. de 13 km al N de Berriozábal rumbo a Las Maravillas, Mpio. Berriozábal, Chiapas.	SAP, 1140 m
<i>P. juglandifolia</i>	JBFXC No. Catálogo 86-137 86-149	Jardín botánico: Francisco Xavier Clavijero (JBFXC), Instituto de Ecología, A. C. de Xalapa, Veracruz. (Loc. Original: Reserva ecológica El Ocote, Mpio. Ocozocoautla de Espinas, Chiapas).	SAP, 750 m
<i>P. macrosora</i>	AMR-393	Cañada de Agua Fría, al oeste de Omiltemi, camino de Omiltemi-Las Joyas, Mpio. de Chilpancingo de los Bravo, Guerrero.	BMM, 2400 m
<i>P. nobilis</i> var. <i>nobilis</i>	AMR-161 AMR-162	Los Dinamos, 2ª sección, Delg. Magdalena Contreras, México, D. F.	BEA, 2700 m
	AMR-184 AMR-185	El Mirador, 2 km después de Molango, rumbo a Zacualtipán, sobre la carretera 105, Mpio. de Molango, Hidalgo.	BE, 1650 m
	AMR-187 AMR-189 AMR-192	3.6 km después de Ismolintla, sobre la brecha que conduce a Eloxochitlán, Mpio. de Molango, Hidalgo.	BPE, 1620 m
<i>P. nobilis</i> var. <i>remotispora</i>	AMR-201 AMR-212	3 km al W de Orizaba, rumbo a Cd. Mendoza, autopista México-Puebla, Veracruz.	BMM, 1230 m
<i>P. pumila</i>	AMR-270 AMR-271	Llano de las Flores, km 130 de la carretera Oaxaca-Tuxtepec, 35 km después de Ixtlán rumbo a Tuxtepec, Oaxaca.	BPE, 2880 m
<i>P. umbonata</i>	AMR-227	Ca. 1.5 km después de El Platanito, carretera Cd. del Maíz - El Naranjo, Mpio. Ciudad del Maíz, San Luis Potosí.	BMM, 900 m

<i>Stigmatopteris contracta</i>	LDG-26734	Golfito, Provincia Puntarenas, Costa Rica.	SAP, 30 m
<i>S. longicaudata</i>	AMR-276 AMR-305 AMR-482	2 km después de Vista Hermosa, rumbo a La Esperanza, sobre el km 77.6 de la carretera Tuxtepec-Oaxaca, Mpio. San Juan Comaltepec, Oaxaca.	BMM, 1590 m

AMR (Aniceto Mendoza Ruiz); **CSV** (Carlos Sánchez Villaverde); **JBFXC** (Jardín Botánico: Francisco Xavier Clavijero); **LDG** (Luis Diego Gómez); **BE** (bosque de encino), **BEA** (bosque de encino con *Abies*), **BEP** (bosque de encino-pino), **BMM** (bosque mesófilo de montaña), **BPE** (bosque de pino-encino) y **SAP** (selva alta perennifolia); **Mpio.** (municipio), **m** (metros sobre el nivel del mar).

Tabla M2. Soluciones madre utilizadas para la preparación del medio de cultivo de Thompson para cultivar gametofitos.

Macroelementos	peso (gr)/100ml de agua destilada
Nitrato de amonio (NH_4NO_3)	2.5
Fosfato de potasio (K_2HPO_4)	2.0
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.0
Cloruro de calcio (CaCl_2)	1.0
Microelementos	peso (gr)/1000ml de agua destilada
Sulfato de manganeso (MnSO_4)	0.0220
Sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.0240
Sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.0290
Acido bórico (H_3BO_3)	0.1860
Molibdato de sodio ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.0035
Sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	2.5000
Sodio EDTA (etilendinitrilotetracetato disódico)	3.7000

(Tomado de Klekowski, 1969).

Tabla M3. Substancias para la preparación del medio de cultivo de Thompson.

Macroelementos	Volumen en mililitros (ml)
NH_4NO_3	5
K_2HPO_4	25
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	12
CaCl_2	2
Microelementos	Volumen en mililitros (ml)
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	10
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10
H_3BO_3	10
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10
Sodio EDTA	10
agar	10 gr
agua destilada (aforar a)	1000

(Tomado de Klekowski, 1969).

RESULTADOS

Como resultado del trabajo de investigación se han publicado dos artículos sobre la morfogénesis de los géneros *Arachniodes* y *Didymochlaena* respectivamente, uno más sobre el género *Olfersia* ha sido aceptado por la Revista American Fern Journal y se encuentra en prensa. También se anexan los resultados correspondientes a las especies de *Phanerophlebia* y *Stigmatopteris*; así como una discusión general en la que se presenta de manera sintética el análisis de los resultados del proyecto en su conjunto.

Nota: para los artículos ya publicados, se respetó el formato de la presentación de los trabajos sugeridos por las revistas a las que fueron sometidos.

Morfogénesis de la fase sexual del helecho *Arachniodes denticulata* (Dryopteridaceae)

Aniceto Mendoza, Blanca Pérez-García y Ramón Riba

Departamento de Biología, Área de Botánica Estructural y Sistemática, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. Apartado Postal 55-535, 09340 México, D. F. Fax: (92) 5804 4688, correo electrónico: amr@xanum.uam.mx

Recibido: 25-II-1999. Corregido: 21-VI-1999. Aceptado: 24-VI-1999.

Abstract: Spore morphology and sexual phase development of *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching are described from material collected in state of Hidalgo, Oaxaca and Veracruz, Mexico (one sample from each locality). The spores were sown in Thompson medium with agar (30 Petri dishes). The spores are monoete, with perine, ellipsoid in shape and non chlorophyllic. The germination is *Vittaria*-type and the prothallial development *Aspidium*-type; the gametophytes are cordiform-spatulate to cordiform-reniform in shape, with unicellular capitate trichome in margin and surface; rhizoids without chloroplasts; gametangia are the common type in leptosporangiate homosporous ferns. No sporophytes were observed after 200 days of culture. It is concluded that *A. denticulata* share common characteristics with *A. aristata*, *A. assamica* and species of the genera *Cyrtomium*, *Dryopteris* and *Polystichum*, such as type of spore germination, prothallial development and, in early stages of prothallial growth formation of trichomes. *Didymochlaena truncatula* differ from those species in prothallial development *Adiantum*-type and naked prothalli.

Key words: *Arachniodes*, Dryopteridaceae, gametophytes, México, morphogenesis, prothallus.

Arachniodes Blume, es un género conformado por 50 a 55 especies (Tindale 1961), principalmente asiáticas, con unas cuantas especies en África y en América. Las especies americanas son cuatro (Morton 1960), de las cuales solamente *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching está presente desde México (Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Oaxaca, Puebla y Veracruz) hasta el sur de Brasil, incluyendo Cuba y Jamaica; se encuentra en bosques mesófilos de montaña, bosques de pino, bosques de pino-encino y vegetación secundaria derivada de estos bosques, en altitudes de 1200-2900 m. Es terrestre con rizoma erecto o decumbente, pecíolo de media a dos veces más largo que la lámina; lámina 15-35 cm largo, tres a cinco pinnada, firme cartácea a subcoriácea, esporas

monoletes con perina, cromosomas: $n=41$ (Gibby *et al.* 1992, Moran 1995).

Algunos géneros de la familia Dryopteridaceae que crecen en México han sido estudiados desde el punto de vista taxonómico por Moran (1995), Yatskievych (1996). Desde el punto de vista florístico, Riba y Pérez-García (1999) hacen un estudio de la familia para México. Las afinidades de *Arachniodes* son probablemente con *Dryopteris* y *Polystichum* (Tindale 1961), o quizá con *Ctenitis* (Morton 1960).

Con respecto a la morfogénesis de la fase sexual, sólo hay estudios para especies de la familia Dryopteridaceae principalmente del Viejo Mundo y algunas del Nuevo Mundo como:

Arachniodes, *Cyrtomium*, *Polystichum* (Chandra y Nayar 1970, Atkinson 1973), *Didymochlaena* (Stokey y Atkinson 1954, Mendoza et al. 1999) y *Dryopteris* (Atkinson y Stokey 1964, Cousens 1975, Kaur 1977, Pérez-García et al. 1999).

Este trabajo complementa la información existente sobre la morfogénesis de la fase gametofítica del género *Arachniodes*, esperando con ello contribuir al conocimiento de la fase sexual de las especies que crecen en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las esporas se obtuvieron, de guardar en bolsas de papel pinnas fértiles, obtenidas de ejemplares de *A. denticulata*, recolectadas en el campo en las siguientes localidades: La Montaña, cinco km al norte de Tlanchinol rumbo a Huejutla, Municipio de Huejutla de Reyes, Estado de Hidalgo. Un km después de Paz de Enríquez, rumbo a Misantla, Mpio. Yecuatla, Edo. de Veracruz y Campamento Vista Hermosa, Carretera Oaxaca-Tuxtepec, Edo. de Oaxaca. Los ejemplares de respaldo se encuentran depositados en el Herbario UAMIZ, bajo los acrónimos AMR 193, AMR 252 y AMR 282.

Una vez liberadas las esporas, se tamizaron con una malla metálica con poros de 0.074 mm de diámetro, para eliminar restos de esporangios e indusios. Las esporas fueron sembradas en 30 cajas de Petri de cinco cm de diámetro, que contenían medio de cultivo de Thompson en agar previamente esterilizado (Klekowski 1969) y se esparcieron con un pincel de pocas cerdas sobre la superficie del medio solidificado, con una densidad promedio de 150-200 esporas por cm².

Los cajas se mantuvieron en condiciones de laboratorio dentro de bolsas de polietileno transparente, para evitar contaminación y desecación, con un fotoperíodo de 12 hrs luz-oscuridad con luz artificial (lámparas Solar 75

Watts, luz de día), a una temperatura de 20-28 °C; tres cajas se mantuvieron en la obscuridad para determinar fotoblastismo (Mendoza et al. 1999).

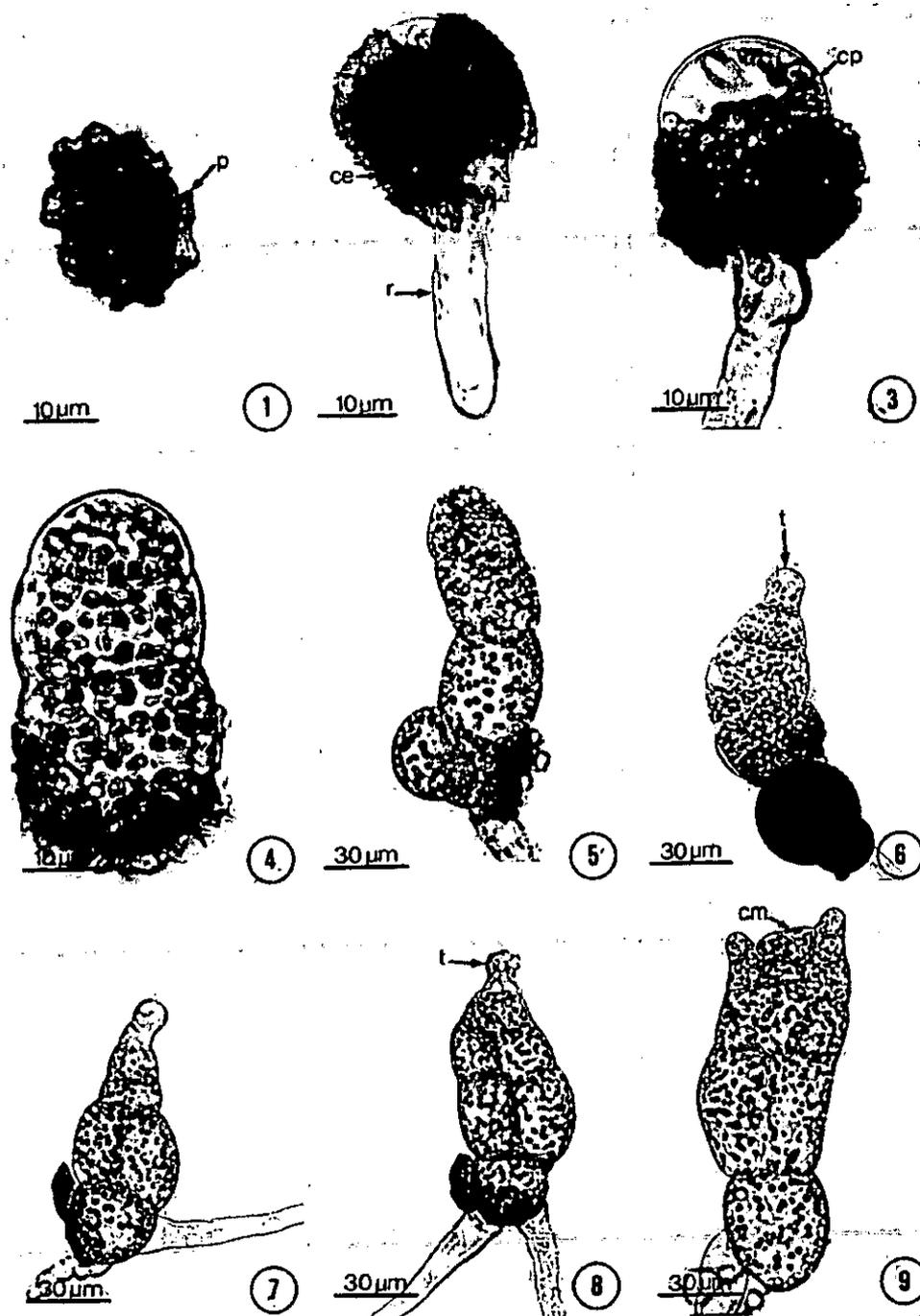
Las fotomicrografías fueron tomadas de material vivo.

RESULTADOS

Esporas: de acuerdo a nuestras observaciones, las esporas son monoletes, elipsoidales, con perina y de color pardo oscuro, superficie rugosa a tuberculada, formada por pliegues que terminan en picos irregulares, miden en promedio 30 x 42 µm (Fig. 1).

Geminación: es de tipo *Vittaria* (Nayar y Kaur 1971), se inicia entre los 9-14 días después de haber sido sembradas las esporas y donde se desarrolla primero la célula rizoidal unicelular, corta y hialina; posteriormente se forma la célula protálica con abundantes cloroplastos, que finalmente origina un filamento uniseriado de 2-4 células, con un tricoma apical (Fig. 2-6).

Fase laminar: el desarrollo protálico es de tipo *Aspidium* (Nayar y Kaur 1969). La geminación de la espora origina un filamento uniseriado corto (2-4 células), en el que la célula terminal forma un tricoma en su ápice (Fig. 6). La formación de la lámina se inicia entre los 18-30 días, por la división de las células intermedias del filamento, que están por debajo de la célula terminal (Fig. 6-8); o bien a partir de la célula terminal del filamento, después de haber formado el tricoma, la cual se divide longitudinalmente de tal forma que el tricoma queda colocado sobre una de las células hijas. Más tarde se diferencia la célula meristemática que, mediante divisiones longitudinales y transversales, va a formar una lámina joven entre los 30-50 días con una ala



Figs. 1-9. Desarrollo protálico de *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching. 1. Espora. 2.- Germinación tipo *Vittaria*, 3-5. Fases filamentosas (2-4 células). 6-9. Formación de la lámina protálica (4-12 células). *ce*= cubierta de la espóra, *cm*= célula meristemática, *cp*= célula protálica, *p*= perina, *r*= rizoide, *t*= tricoma.

Figs. 1-9.- Prothallial development of *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching. 1.- Spore, 2.- *Vittaria*-type germination, 3-5.- Filament stages (2-4 cells), 6-9.- Prothallial blade development (4-12 cells). *ce*= spore coat, *cm*= meristematic cell, *cp*= prothallial cell, *p*= perine, *r*= rhizoid, *t*= trichomes.

ligeramente más grande que la otra; esta forma asimétrica se pierde cuando se forma el cojinete (Fig. 9-11). Los protalos adultos son cordiformes-espatulados a cordiformes-reniformes, con abundantes tricomas unicelulares alargados, capitados, que se distribuyen tanto en el margen como en la superficie de la lámina (Fig. 12-13).

Gametangios: son del tipo común de los helechos leptosporangiados, se diferenciaron entre los 100-150 días.

Los arquegonios se formaron entre los 100-110 días, el cuello está formado por cuatro hileras de células, cada hilera está conformada por 4-6 células. Los cuellos están orientados hacia la región basal de los protalos y se localizan cerca de la zona meristemática (Fig. 14-16).

Los anteridios se diferenciaron alrededor de 110-150 días y se localizan en la región media basal de los gametofitos entre los rizoides; son globosos y están formados por cuatro células, una basal, media y una célula opercular que rodean a la cuarta célula que contiene a los anterozoides (Fig. 12, 17).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La fase gametofítica de *Arachniodes denticulata* que crece en México, comparte características similares con las especies asiáticas *Arachniodes assamica* (Kuhn) Ching y *A. aristata* (G. Forst.) Tindale (Chandra y Nayar 1970). Los caracteres que comparten son: esporas monoletes, elipsoidales, con perina, superficie rugosa a ondulada, con pliegues irregulares, color pardo claro a pardo oscuro; germinación tipo *Vittaria* (Nayar y Kaur 1971) y desarrollo protálico tipo *Aspidium* (Nayar y Kaur 1969), como rasgo distintivo de los gametofitos de *A. denticulata*, *A. assamica* y *A. aristata* es que el filamento germinal termina comúnmente en un tricoma

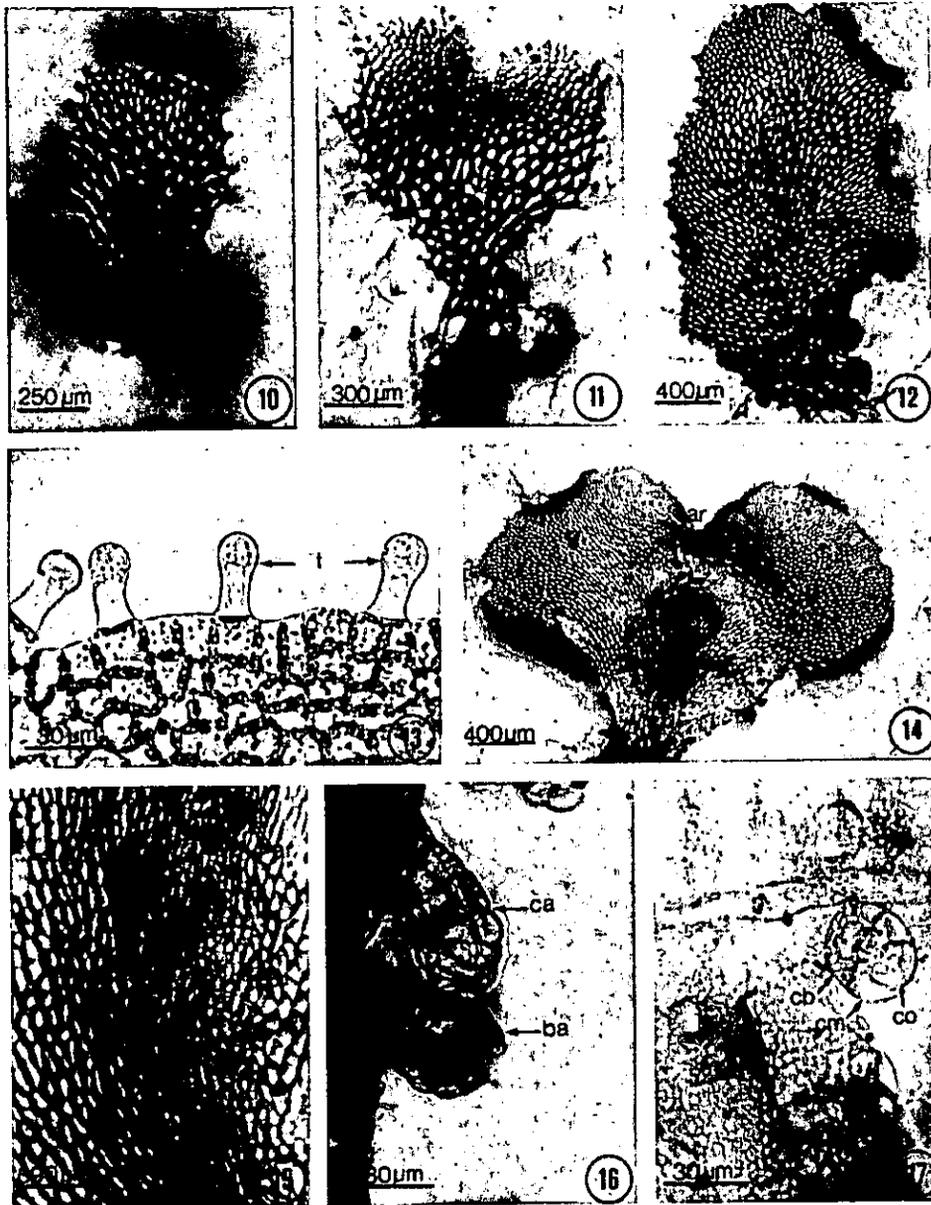
unicelular, y la lámina protálica se forma principalmente por la división de las células intercalares del filamento (Figs. 6-8). Las diferencias encontradas entre estas tres especies, aunque no muy significativas son: tiempo de germinación, tiempo de formación de protalos adultos, así como diferenciación de los gametangios (Véase cuadro 1).

Comparando el desarrollo protálico de las especies de *Arachniodes* con algunas especies de *Cyrtomium* (Chandra y Nayar 1970), *Dryopteris* (Pérez-García et al. 1999), *Polystichum* (Chandra y Nayar 1970) todos ellos de la familia Dryopteridaceae, encontramos que comparten el mismo patrón de germinación de la spora y desarrollo protálico.

Por otro lado *Didymochlaena truncatula* (Sw.) J. Sm., a pesar de que se encuentra dentro de la misma familia, sólo comparte el mismo patrón de germinación, pero difiere del resto de los géneros mencionados anteriormente, porque presenta un patrón de desarrollo protálico tipo *Adiantum*, que se caracteriza por la diferenciación de una célula meristemática apical en etapas tempranas durante la formación de la lámina protálica, los protalos adultos son glabros, en comparación con los gametofitos de los otros géneros, que presentan numerosos tricomas tanto marginales como en ambas superficies de la lámina (Mendoza et al. 1999).

Pero a nivel de gametangios, encontramos que son muy similares en cuanto al número de células que presentan los anteridios y los arquegonios.

Se puede concluir que *Arachniodes denticulata* comparte características comunes con *A. aristata*, *A. assamica* y con especies de los géneros *Cyrtomium* (Chandra y Nayar 1970), *Dryopteris* (Pérez-García et al. 1999), *Polystichum* (Chandra y Nayar 1970), como son el patrón de germinación y desarrollo protálico, así como la presencia de tricomas unicelulares desde etapas



Figs. 10-17. Desarrollo protálico de *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching. 10-11. Fases laminares jóvenes. 12. Gametofito adulto con anteridios. 13. Tricomas capitados marginales. 14. Gametofito adulto con arquegonios. 15. Distribución de arquegonios en la región media central del gametofito sobre el cojinete. 16. Boca y cuello de arquegonio. 17. anteridios. **an**= anteridios, **ar**= arquegonios, **ba**= boca de arquegonio, **ca**= cuello de arquegonio, **cb**= célula basal, **cm**= célula media, **co**= célula opercular, **t**= tricomas capitados.

Figs. 10-17. Prothallial development of *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching. 10-11. Young blade stage. 12. Adult gametophyte with antheridia. 13. Marginal capitulate trichomes. 14. Adult gametophyte with archegonia. 15. Archegonia in the medial central region of the gametophyte, on the cushion. 16. Mouth and neck of archegonium. 17. Antheridia. **an**= antheridia, **ar**= archegonia, **ba**= mouth of archegonia, **ca**= neck of archegonia, **cb**= basal cell, **cm**= medium cell, **co**= opercular cell, **t**= capitulate trichomes.

CUADRO 1.

Comparación de las distintas fases de desarrollo protálico de *Arachniodes denticulata* con otros géneros y especies de la familia Dryopteridaceae.

TABLE 1.

Comparison of different stage of the prothallial development of *Arachniodes denticulata* with other genera and species of Dryopteridaceae.

Taxa/ caracteres	Tipo de espora	Germinación	Filamento geminativo	Desarrollo protálico	Fase adulta	Tricomas	Anteridios	Arquegonios
<i>Arachniodes aristata</i> ¹	Monoletes con perina, 30 µm x 42 µm	Tipo Vittaria	2-5 células, con tricoma	Tipo Aspidium	Cordiformes	Unicelulares papilados	4 células	4 hileras de células
<i>A. assamica</i> ¹	Monolete con perina, 20 µm x 30 µm	Tipo Vittaria	2-5 célula con tricoma	Tipo Aspidium	Cordiformes	Unicelulares papilados	4 células	4 hileras de células
<i>A. denticulata</i>	Monoletes con perina, 30 µm x 42 µm	Tipo Vittaria	2-4 células con tricoma	Tipo Aspidium	Cordiformes, con margen ligeramente lacerado	Unicelulares papilados	4 células	4 hileras de células
<i>Cyrtomium</i> ¹	Monoletes con perina, 32 µm x 45 µm	Tipo Vittaria	2-5 células con tricoma	Tipo Aspidium	Cordiformes, apogámico	Unicelulares papilados	4 células	4 hileras de células
<i>Didymochlaena truncatula</i> ²	Monoletes con perina, 30 µm x 37 µm	Tipo Vittaria	2-3 células	Tipo Adiantum	Cordiformes- espatulados a reniformes, margenes lisos	Ausentes	4 células	4 hileras de células
<i>Dryopteris</i> ³	Monoletes con perina, 35 µm x 45 µm	Tipo Vittaria	2-5 células con tricoma	Tipo Aspidium	Cordiformes a reniformes	Unicelulares papilados	4 células	4 hileras de células
<i>Polystichum</i> ¹	Monoletes con perina, 34 µm x 45 µm	Tipo Vittaria	2-8 células	Tipo Aspidium	Cordiformes con tricomas	Unicelulares papilados	4-5 células	4 hileras de células

¹ Chandra y Nayar 1970, ² Mendoza *et al.* 1999, ³ Pérez-García *et al.* 1999.

tempranas del desarrollo de los protalos. Por su parte *Didymochlaena truncatula* difiere de las anteriores por presentar un patrón de desarrollo protálico distinto y por la ausencia de tricomas en toda su fase sexual.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a Judith Márquez y David Díaz Pontones sus sugerencias y comentarios hechas al

manuscrito, así como a Jorge Lodigiani por el procesamiento del material fotográfico y a los revisores externos por las críticas y sugerencias al manuscrito. Este trabajo forma parte de la tesis titulada: "Morfogénesis de la fase sexual de pteridofitas mexicanas: familia Dryopteridaceae", para obtener el grado de Maestro en Ciencias (Biología Vegetal) del primer autor, que fue desarrollada en el Laboratorio AS-102 de la Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa.

RESUMEN

Se describe la morfología de la espora y desarrollo de la fase sexual de *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching. El material fue recolectado en los estados de Hidalgo, Oaxaca y Veracruz, México (una muestra por cada localidad). Las esporas fueron sembradas en medio de Thompson con agar (30 cajas). Sus esporas son monoletes con perina, elipsoidales, no clorofílicas. Su germinación es tipo *Vittaria* y su desarrollo protálico tipo *Aspidium*, el gametofito adulto es cordiforme-espátulado a cordiforme-reniforme; presentan tricomas marginales y superficiales, unicelulares, capitados; los rizoides no tienen cloroplastos; sus gametangios son del tipo común de los helechos leptosporangiados. Después de 200 días de haber sido sembradas las esporas, no se formaron esporofitos. Se concluye que *A. denticulata* comparte características comunes con *A. aristata*, *A. assamica* y con especies de los géneros *Cyrtomium*, *Dryopteris*, *Polystichum*, como son el tipo de germinación y desarrollo protálico, así como la presencia de tricomas unicelulares desde jóvenes protalos. Mientras que *Didymochlaena truncatula* difiere de las anteriores por presentar un patrón de desarrollo protálico tipo *Adiantum* y por la ausencia de tricomas en toda su fase sexual.

REFERENCIAS

- Atkinson, L.R. 1973. The gametophyte and family relationships, p. 73-90. In A.C. Jermy, J.A. Crabbe & B.A. Thomas (eds.) The phylogeny and classification of the ferns. Academic, Nueva York.
- Atkinson, L.R. & A.G. Stokey. 1964. Comparative morphology of the gametophyte of homosporous ferns. *Phytomorphology* 14: 51-70.
- Chandra, P. & B.K. Nayar. 1970. Morphology of some polystichoid ferns. I. The gametophytes of *Arachniodes*, *Cyrtomium* and *Polystichum*. *J. Linn. Soc. Bot.* 63: 265-276.
- Cousens, M.I. 1975. Gametophyte sex expression in some species of *Dryopteris*. *Amer. Fern J.* 60: 13-27.
- Gibby, M., H. Rasbach, T. Reichstein, C.J. Widén & R.L. Viane. 1992. Micromorphology, chromosome numbers and phloroglucinols of *Arachniodes foliosa* and *A. webbiana* (Dryopteridaceae, Pterophyta). *Bot. Helv.* 102: 229-245.
- Kaur, S. 1977. Morphology of the prothallus and juvenile sporophytes of some species of *Dryopteris*. *Proc. Indian Acad. Sci.* 85: 163-171.
- Klekowski, E.J. Jr. 1969. Reproductive biology of the pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. *J. Linn. Soc.* 62: 361-377.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999. Morfología y anatomía del gametofito de *Didymochlaena truncatula* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* 47: 87-93.
- Moran, R.C. 1995. Dryopteridaceae, p. 210-226. In R.C. Moran & R. Riba (eds.). *Flora Mesoamericana*. Instituto de Biología (UNAM), Jardín Botánico de Misuri y Museo de Historia Natural de Londres. Ciudad Universitaria, México, D. F.
- Morton, C.V. 1960. Observations on cultivated ferns VI. The ferns currently known as *Rumohra*. *Amer. Fern J.* 50: 145-155.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* 19: 179-188.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Bot. Rev.* 37: 295-396.
- Pérez-García, B., A. Mendoza, I. Reyes Jaramillo & R. Riba. 1999. Morfogénesis de la fase sexual de seis especies mexicanas del género *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* 74: 63-75.
- Riba, R. & B. Pérez-García. 1999. Dryopteridaceae. Consejo Nacional de la Flora de México, A. C. 6(4): 1-48.
- Stokey, A.G. & L.R. Atkinson. 1954. The gametophyte of *Didymochlaena sinuata* Desv. *Phytomorphology* 4: 310-315.
- Tindale, M.D. 1961. Studies in Australian pteridophytes. No. 3. *Contr. New South Wales Natl. Herb., Fl. Ser.* 3: 88-92.
- Yatskievych, G. 1996. Revision of the ferns genus *Phanerophlebia* (Dryopteridaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 83: 168-199.

Morfología y anatomía del gametofito de *Didymochlaena truncatula* (Dryopteridaceae)

Aniceto Mendoza, Blanca Pérez-García y Ramón Riba

Departamento de Biología, C. B. S. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. Apartado Postal 55-535, 09340 México, D. F. Fax: (52) 5804 4688, amr@xanum.uam.mx

Recibido 22-IV-1998. Corregido 25-X-1998. Aceptado 30-X-1998

Abstract: Sexual phase development was studied in *Didymochlaena truncatula*, on the basis of spores collected in Península Moreno and Tebanca, Catemaco, Veracruz, México. The spores are monoletic, ellipsoid, with perine, and non-chlorophyllic. The germination pattern is of the *Vittaria*-type and the prothallial development is of the *Adiantum*-type, the adult gametophytes are cordiform to reniform and without trichomes; the gametangia are typical of the leptosporangiate ferns. The first leaf of the sporophyte appears 100 days after the sowing of the spores, the lamina is spatulate, with dichotomous venation and short capitate, unicellular marginal hairs.

Key words: *Didymochlaena*, Dryopteridaceae, gametophyte, México, morphogenesis, prothallus, Pteridophyta.

Didymochlaena truncatula (Sw.) J. Sm., es un género monotípico de amplia distribución de la familia Dryopteridaceae, crece desde Veracruz (México) hasta el sur de Panamá, en las Grandes Antillas (excepto Jamaica), norte de Sudamérica y sureste de Brasil; en el Viejo Mundo se encuentra en regiones tropicales del este y sureste de África, India, especialmente en la región del Himalaya, China, Japón, Malasia y Australia; habita en selvas altas y en bosques húmedos, entre los 100-1000 m snm y raramente hasta 2300 m de altitud. Esta planta se caracteriza por tener hojas monomorfas, bipinnadas, el ápice conforme a las pinnas laterales, las pínulas son dimidiadas, los soros tienen indusios alargados y redondeados en el extremo distal, distribuidos en ambos lados de la nervadura y curvados alrededor de su ápice; las esporas son monoletes; número cromosómico: $n=41$ (Mickel y Beitel 1988, Moran 1995, Riba y Pérez-García 1997, Tryon y Tryon 1982).

Como resultado de la revisión bibliográfica se

han encontrado estudios de la fase sexual de algunos géneros de la familia Dryopteridaceae, tales como *Arachniodes*, *Cyrtomium*, *Polystichum* (Atkinson 1973, Chandra y Nayar 1970), *Didymochlaena* (Stokey y Atkinson 1954) y *Dryopteris* (Atkinson y Stokey 1973, Cousens 1975 y Kaur 1977), todos ellos hechos en el Viejo Mundo, no existiendo al momento estudios para especies mexicanas que conforman la familia.

Este trabajo pretende complementar la información existente sobre la morfogénesis de la fase gametofítica de *D. truncatula*, esperando con ello contribuir al conocimiento de las especies mexicanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las esporas se obtuvieron guardando en bolsas de papel pinnas fértiles obtenidas de ejemplares de *D. truncatula* recolectados en el

campo, en las localidades de Península Moreno (Coyame) y 3.5 km al este de Tebanca, Municipio de Catemaco, Veracruz (ejemplares de respaldo AMR-142, AMR-205, depositado en UAMI).

Una vez liberadas las esporas, se tamizaron con una malla metálica del No. 200 con poros de 0.074 mm de diámetro para eliminar restos de esporangios e indusios. Las esporas fueron sembradas en 30 cajas de Petri de 5 cm de diámetro, que contenían medio de cultivo de Thompson en agar previamente esterilizado (Klekowski 1969 y Pérez-García 1989). Las esporas se esparcieron con un pincel de pocas cerdas sobre la superficie del medio solidificado, con una densidad promedio de 150-200 esporas por cm².

Los cajas se mantuvieron en condiciones de laboratorio dentro de bolsas de polietileno transparente, para evitar contaminación y desecación, con un fotoperiodo de 12 hrs luz-oscuridad con luz artificial (lámparas Solar 75 Watts, luz de día), a una temperatura de 24-28 °C; tres cajas se mantuvieron en obscuridad para determinar fotoblastismo (Mendoza *et al.* 1996-1997).

Los gametofitos fértiles se fijaron en FAA (5% formaldehído + 5% ácido acético + 63% alcohol + 27% agua), se deshidrataron en alcoholes graduales (30%, 50%, 70% y 100%) y fueron infiltrados en JB-4 (mezcla plástica de componente A + componente B + catalizador), los cortes de los gametofitos con un grosor de 2 µm se hicieron con un ultramicrotomo, teñidos posteriormente con azul de toluidina O y montados con resina sintética (O'Brien *et al.* 1964).

Las fotomicrografías fueron tomadas de material en vivo y preparaciones fijadas.

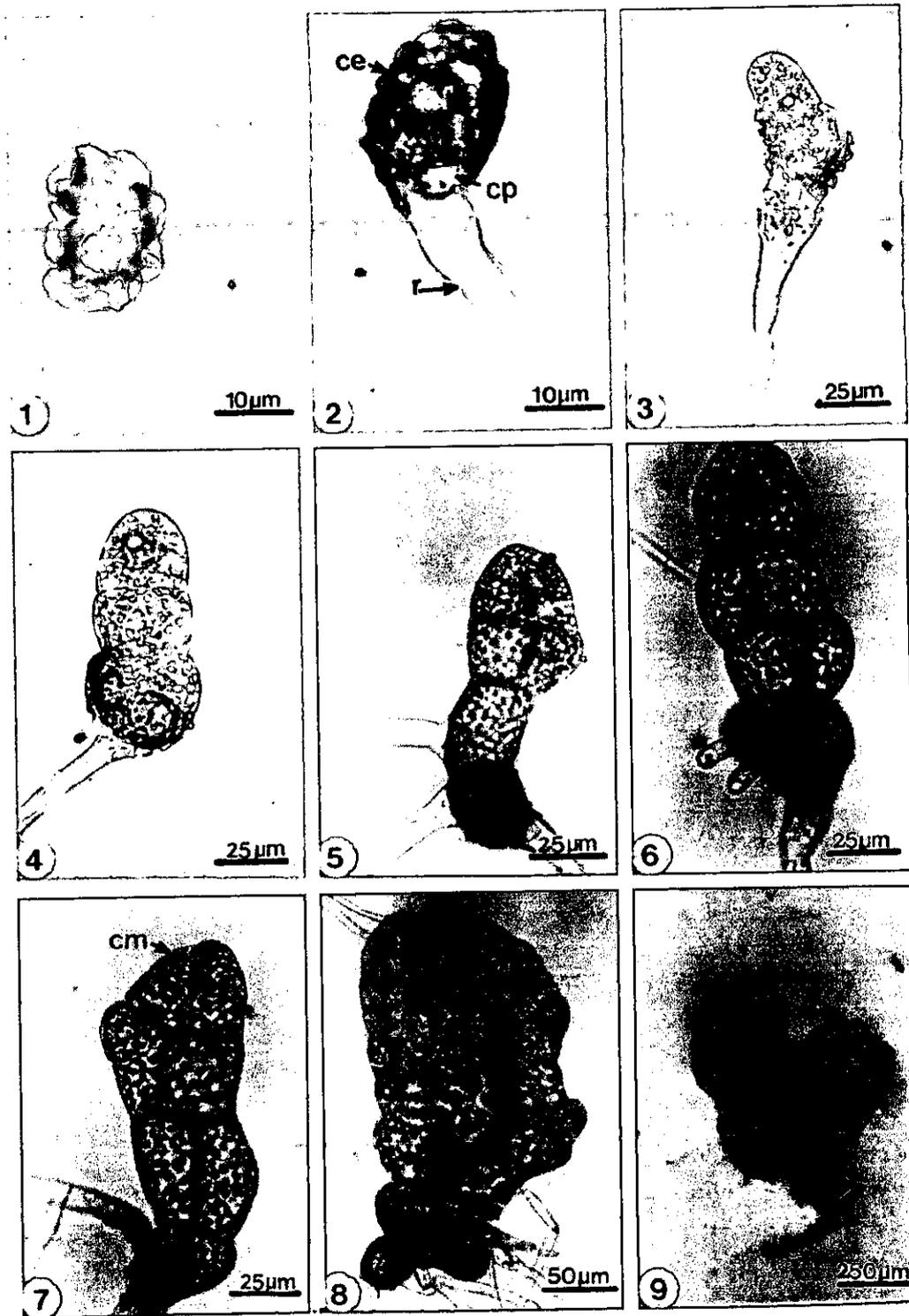
RESULTADOS

Esporas: Son monoletes de color pardo claro, miden 30-37 µm, con perina bien diferenciada, de

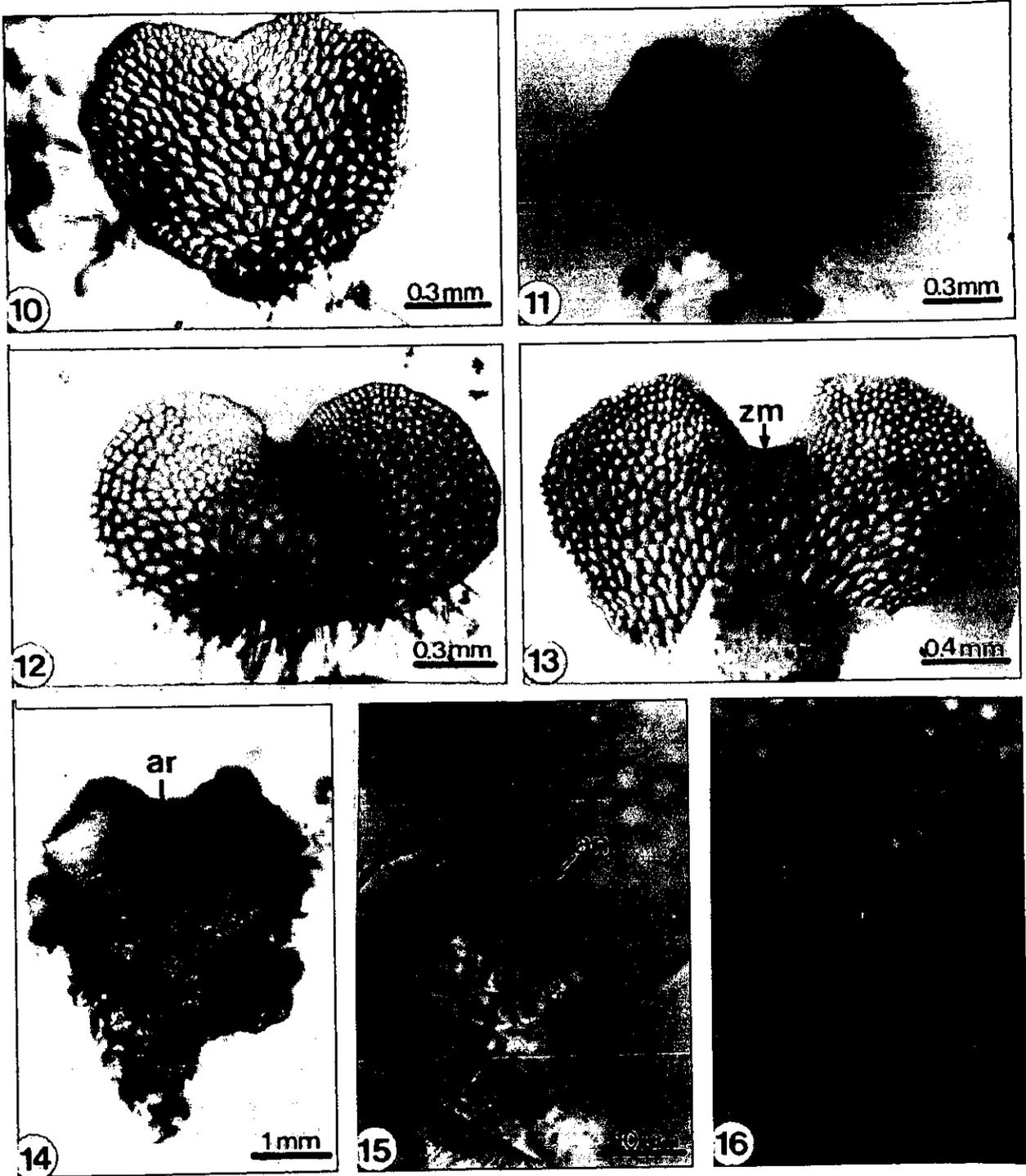
forma elipsoidal a ligeramente esferoidal, superficie rugosa, equinulada a tuberculada y con prominentes pliegues (Fig. 1). (Tryon y Lugardon 1982, Tryon y Tryon 1991.)

Germinación: El patrón de germinación es de tipo *Vittaria* de acuerdo con Nayar y Kaur (1971), entre los 5-8 días se desarrolla una célula rizoidal larga, hialina, sin cloroplastos, a partir de la célula proximal, mientras que la célula distal se divide por una pared transversal formando dos células hijas con abundantes cloroplastos y algunos glóbulos de aceite de color amarillo; aún se conserva la cubierta de la spora (Figs. 2, 3).

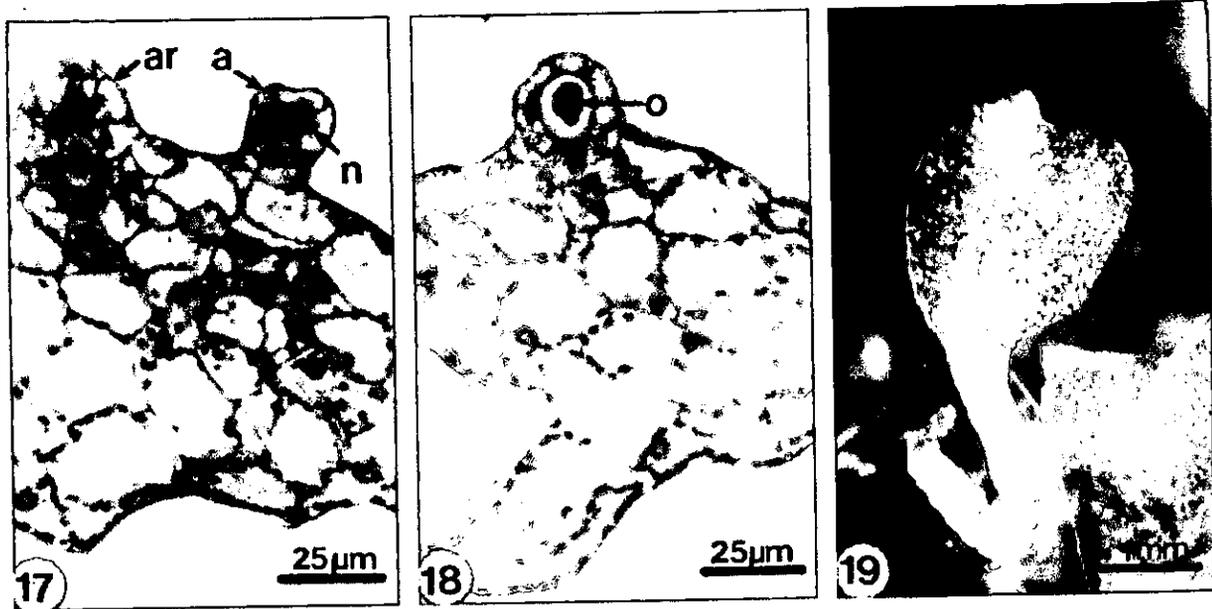
Desarrollo protálico: Es de tipo *Adiantum* (Nayar y Kaur, 1969) y se inicia entre los 8-12 días después de la germinación de la spora. Por divisiones paralelas de la pared de la célula protálica inicial se forma un filamento corto de 2-3 células de longitud (Figs. 3, 4), la formación de la lámina se inicia entre los 15- 25 días por divisiones longitudinales y transversales de la célula terminal del filamento germinativo, delimitando una célula meristemática obcónica (Fig. 5). Por la actividad de esta célula, entre los 28-35 días se forma un protalo joven espatulado (Fig. 6), más tarde (40-50 días) el ápice del gametofito se modifica y forma un meristemo pluricelular que reemplaza a la célula meristemática inicial, formando una escotadura y finalmente se forma un protalo cordiforme-espatulado glabro (Figs. 7, 8, 9). Los protalos maduros (60 días), se caracterizan por ser cordiforme-espatulados a cordiforme-reniformes con su meristemo pluricelular de posición apical formando una escotadura, el cojinete es central con cinco a siete capas de células de grosor y en él se localizan los gametangios, los rizoides son abundantes, hialinos de color pardo claro y sin cloroplastos (Figs. 10- 14), los gametofitos adultos son monoicos y glabros.



Figs. 1-9. Germinación y fases laminares de *Didymochlaena truncatula*. 1. Espora, 2. Germinación de la espóra (7 días), 3-4. Fases filamentosas (12 días), 5-7. Inicios de la fase laminar (15-18 días), 8-9. Fases laminares jóvenes (28-38 días). *ce* = cubierta de la espóra, *cm* = célula meristemática, *cp* = célula protálica, *r* = rizóide.



Figs. 10-16. Fases laminares y gametangios de *Didymochloa truncatula*. 10-12. Fases laminares adultas (36-46 días), 13. Gametofito cordiforme con anteridios (60 días), 14. Gametofito cordiforme espatulado con arquegonios (150 días), 15-16. Anteridios (60-70 días). **a** = anteridios, **an** = anterozoides, **ar** = arquegonios, **cb** = célula basal, **cm** = célula media, **co** = célula opercular, **zm** = zona meristemática.



Figs. 17-19. Gametangios y primeras hojas del esporofito de *Didymochlaena truncatula*. 17. Corte longitudinal del arquegonio y del anteridio, 18. Corte longitudinal del cuello de arquegonio con la oosfera, 19. Primeras hojas del esporofito (100 días). a = anteridio, ar = arquegonio, l = lamina, n = núcleos de las células del anteridio, o = oosfera, p = pecíolo.

Gametangios: La formación de los arquegonios se inicia alrededor de los 45-50 días, se encuentran distribuidos en la región apical del cojinete, cercanos a la zona meristemática, el cuello del arquegonio está formado por cuatro hileras de células, la boca tiene cuatro células, éstos están orientados hacia la región basal del protalo (Figs. 14, 17, 18).

Los anteridios se forman de manera simultánea que los arquegonios, se encuentran distribuidos en la región media inferior del gametofito, sobre el cojinete y entre los rizoides (Fig. 13); están formados por 3 células, una célula basal, una célula media y una opercular que rodean a la célula espermatógena (Figs. 15, 16, 17), el mecanismo de dehiscencia y liberación de los anterozoides es por la apertura de un poro en la pared expuesta de la célula espermatógena, después del desprendimiento de la célula opercular.

Esporofito: Las primeras hojas se forman después de 100 días de haber sido sembradas las esporas, son de forma espatulada con venación dicotómica, tricomas marginales unicelulares, cortos y capitados (Fig. 19). Los estomas son del tipo anomocítico por no tener células subsidiarias (Van Cotthem 1973), las paredes laterales de las células epidérmicas de las caras adaxial y abaxial de la lámina son onduladas.

DISCUSIÓN

Stokey y Atkinson (1954) describieron la morfología del protalo de *Didymochlaena sinuata* Desv. (= *D. truncatula* (Sw.) J. Sm.). Sin embargo es importante resaltar que el trabajo fue realizado con esporas procedentes del Jardín Botánico de Bruselas, sin mencionar ejemplares de respaldo, por lo que se desconoce su procedencia silvestre, razón por la cual se estudió el material prove-

niente de México.

Nuestros resultados concuerdan con los descritos por las autoras en lo siguiente: las esporas son monoletes con perina, de color pardo y miden en promedio de 30 a 37 μm , la germinación se inicia después de cinco-siete días de la siembra, el patrón de germinación es tipo *Vittaria* y el desarrollo protálico tipo *Adiantum*, los talos maduros son glabros y varían de cordiforme-espatulados a cordiforme-reniformes; los gametangios son del tipo común de los helechos leptosporangiados; los anteridios tienen una célula basal, una célula media y una célula opercular que rodean a la célula espermatógena. La dehiscencia se da por el desprendimiento de la célula opercular y la liberación de los anterozoides es a través de un poro que se forma en la pared expuesta de la célula espermatógena. Los cuellos de los arquegonios están formados por cuatro hileras de células, cada hilera tiene de 4 a 5 células.

Una diferencia importante entre los resultados de Stokey y Atkinson y los obtenidos en este estudio es que dichas autoras mencionaron haber observado rizoides con cloroplastos (los que se pierden después) sobre todo en el margen de la lámina de gametofitos adultos; sin embargo, en nuestras observaciones en ningún caso se encontraron rizoides clorofilicos, ni en el margen ni en la cara inferior de la lámina.

Se puede suponer que esta es una variación relacionada con el origen geográfico de las muestras estudiadas, pero no hay información adicional que pueda apoyar esta idea. Las primeras hojas del esporofito son muy similares a las de otros géneros con hojas compuestas, con tricomas en pecíolo y lámina.

Finalmente, comparando los gametofitos de esta especie con los gametofitos de los géneros *Arachniodes*, *Cyrtomium* (Chandra y Nayar 1970), *Dryopteris* (Cousens 1975, Kaur 1977), *Phanerophlebia*, *Polystichum* y *Olfersia*

(Mendoza, obs. p.) que están considerados dentro de la familia Dryopteridaceae y que crecen en México, observamos que los gametofitos de *Didymochlaena* son totalmente desnudos (carecen de tricomas), en comparación con los protalos de los géneros mencionados anteriormente, los que presentan numerosos tricomas tanto marginales como superficiales, lo cual los hacen diferentes del resto de los géneros pertenecientes a esta familia. Pero a nivel de gametangios, encontramos que los anteridios son similares, presentan tres células: una célula basal, una media y una opercular que están rodeando la célula espermatógena y cuellos de los arquegonios están formados por 4 hileras de células.

Por lo observado en este estudio la consideración del género *Didymochlaena* dentro de la familia Dryopteridaceae sigue estando basada en las características del esporofito, pero los protalos son glabros a diferencia de los gametofitos de los otros géneros pertenecientes a la familia Dryopteridaceae que presentan tricomas marginales y superficiales y según Stokey y Atkinson, son del tipo primitivo y no aportan datos adicionales para debatir la taxonomía del género.

Aunque la morfología comparativa de los gametofitos no es un factor dominante para la interpretación de la filogenia de los helechos puede, sin embargo, ser de considerable ayuda particularmente en lo que respecta a los géneros cuya posición en una familia se encuentra aun en discusión.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio AS-102, bajo la asesoría de los coautores y forma parte de la tesis titulada: Morfogénesis de la fase sexual de pteridofitas mexicanas: familia Dryopteridaceae, para obtener el grado de Maestro en Ciencias (Biología vegetal) del primer autor. Se

agradece a Judith Márquez su asesoría en la parte anatómica, así como también a Jacqueline Ceja Romero su revisión y comentarios hechos a este trabajo y a los revisores externos por las críticas y sugerencias al manuscrito.

RESUMEN

En este trabajo se presenta el estudio de la fase sexual de *Didymochlaena truncatula*. Las esporas son monoletes con perina, elipsoidales, no clorofílicas. Su germinación es tipo *Vittaria* y su desarrollo protálico es tipo *Adiantum*, el gametofito adulto es cordiforme-espatulado a cordiforme-reniforme, no presentan ningún tipo de tricoma, los rizoides no tienen cloroplastos, sus gametangios son del tipo común de los helechos leptosporangiados, las primeras hojas del esporofito se forman después de 100 días de haber sido sembradas las esporas, son de forma espatulada con venación dicotómica y tricomas unicelulares marginales, cortos y capitados.

REFERENCIAS

- Atkinson, L.M. 1973. The gametophyte and family relationships. In: A.C. Jermy, J.A. Crabbe & B.A. Thomas (Eds.). The phylogeny and classification of the ferns. *J. Linn. Soc. Bot.* 67 (Suppl.1): 13-90.
- Atkinson, L.R. & A.G. Stokey. 1964. Comparative morphology of the gametophyte of homosporous ferns. *Phytomorphology* 14: 51-70.
- Chandra, P. & B.K. Nayar. 1970. Morphology of some polystichoid ferns. I. The gametophytes of *Arachniodes*, *Cyrtomium* and *Polystichum*. *J. Linn. Soc. Bot.* 63: 265-276.
- Cousens, M.I. 1975. Gametophyte sex expression in some species of *Dryopteris*. *Amer. Fern J.* 60: 13-27.
- Kaur, S. 1977. Morphology of the prothallus and juvenile sporophytes of some species of *Dryopteris*. *Proc. Indian Acad. Sci.* 85: 163-171.
- Klekowski, E.J. 1969. Reproductive biology of the pteridophyta III. A study of the Blechnaceae. *J. Linn. Soc. Bot.* 62: 360-377.
- Mendoza, A., B. Pérez-García, I. Reyes & M. Ricci. 1996-1997. Desarrollo del gametofito de *Pteris berteriana* C. Agardh (Pteridaceae: Pteridae). *Rev. Biol. Trop.* 44-45: 51-57.
- Mickel, J.T. & J.M. Beitel. 1988. Pteridophyte flora of Oaxaca, Mexico. *Mem. Nueva York Bot. Gard.* 46:1-568.
- Moran, R.C. 1995. Dryopteridaceae, p. 210-226. In R.C. Moran y R. Riba (Eds.). *Flora Mesoamericana*. Vol. 1 Instituto de Biología, Jardín Botánico de Missouri y Museo de Historia Natural de Londres.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* 19: 179-188.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Bot. Rev.* 37: 295-396.
- O'Brien, T.P., N. Feder & M.E. McCully. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 367-373.
- Pérez-García, B. 1989. Morfogénesis de gametofitos de Cyatheaceae (Pterophyta: Filicales). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Riba, R. & B. Pérez-García. 1999. Dryopteridaceae. Consejo Nacional de la Flora de México, A. C. 6: 1-48.
- Stokey, A.G. & L.R. Atkinson. 1954. The gametophyte of *Didymochlaena sinuata* Desv. *Phytomorphology* 4: 310-315.
- Tryon, A.F. & B. Lugardon. 1991. Spores of the Pteridophyta: surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies: i-x. Springer-Verlag, Nueva York. p. 440 - 441.
- Tryon, R.M. & A.F. Tryon. 1982. Ferns and allied plants with special reference to tropical America. Springer-Verlag, Nueva York. p. 515-518.
- Van Cotthem, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematic, p. 57-71. In: A.C. Jermy, J.A. Crabbe & B.A. Thomas (Eds.). The phylogeny and classification of ferns. Academic, Nueva York.

**Comparative Research of Gametophytes of *Olfersia alata* and *Olfersia cervina*
(Dryopteridaceae)**

Aniceto Mendoza, Blanca Pérez-García and †Ramón Riba

Departamento de Biología-Botánica Estructural y Sistemática, Universidad Autónoma
Metropolitana — Iztapalapa, Apdo. Postal 55-535, 09340 México, D. F. Fax: (52) 58 04 46 88.

e-mail: amr@xanum.uam.mx.

Abstract.— The prothallial development of gametophytes of *Olfersia alata* and *Olfersia cervina* (Dryopteridaceae) is described and compared. Spores are monolete, ellipsoid, and with broadly winged perispore. Germination is *Vittaria*-type and the prothallial development is *Aspidium*-type. Adult gametophytes are cordiform-spatulate to cordiform-reniform, with marginal and superficial trichomes. Gametangia are of the type commonly found on leptosporangiate homosporous ferns. Differences between the two species of genus include size of the spores, with of the perine, germination time, size of the trichomes, and time of formation of the gametangia. These two species share some features with some species of *Arachniodes*, *Cyrtomium*, *Dryopteris*, *Phanerophlebia*, and *Polystichum*, such as germination type and prothallial development and trichomes. They differ from *Didymochlaena truncatula*, which has prothallial development of the *Adiantum*-type and lacks trichomes on the sexual phase.

The genus *Olfersia* Raddi (Dryopteridaceae), has two species: *Olfersia alata* C. Sánchez & García Caluff and *Olfersia cervina* (L.) Kunze. *Olfersia alata* is endemic to Cuba; its main characteristics are all sterile pinnae have decurrent bases, and fertile leaves which are smaller and have fewer pinna pairs than the vegetative leaves. It grows in mountainous mesophilous forests, between 350-400 m (Sánchez et al., 1991). *Olfersia cervina* is widely distributed in the tropics, from Southern Mexico (Chiapas, Oaxaca, Veracruz), to Southeastern Brazil and the West Indies. In this species the bases of the sterile pinnae are not decurrent onto the rachis, and pinnae are short-petiolulate. It grows between 450-1000 m in damp tropical forests, on rocky and very shady banks (Moran, 1986, 1995; Riba & Pérez-García, 1999). Both taxa are usually terrestrial, rarely hemiepiphytic, with a short trailing rhizome. Leaves are markedly dimorphic, sori are exindusiate and linear to oblong, and spores are

monolete, echinulate with a broad perispore.

This paper complements existing information about the morphogenesis of the gametophytic phase of dryopteroid ferns and, particularly, focuses on gametophytes of *Olfersia*. We hope to contribute in this way to the knowledge of the sexual phase of Mexican ferns.

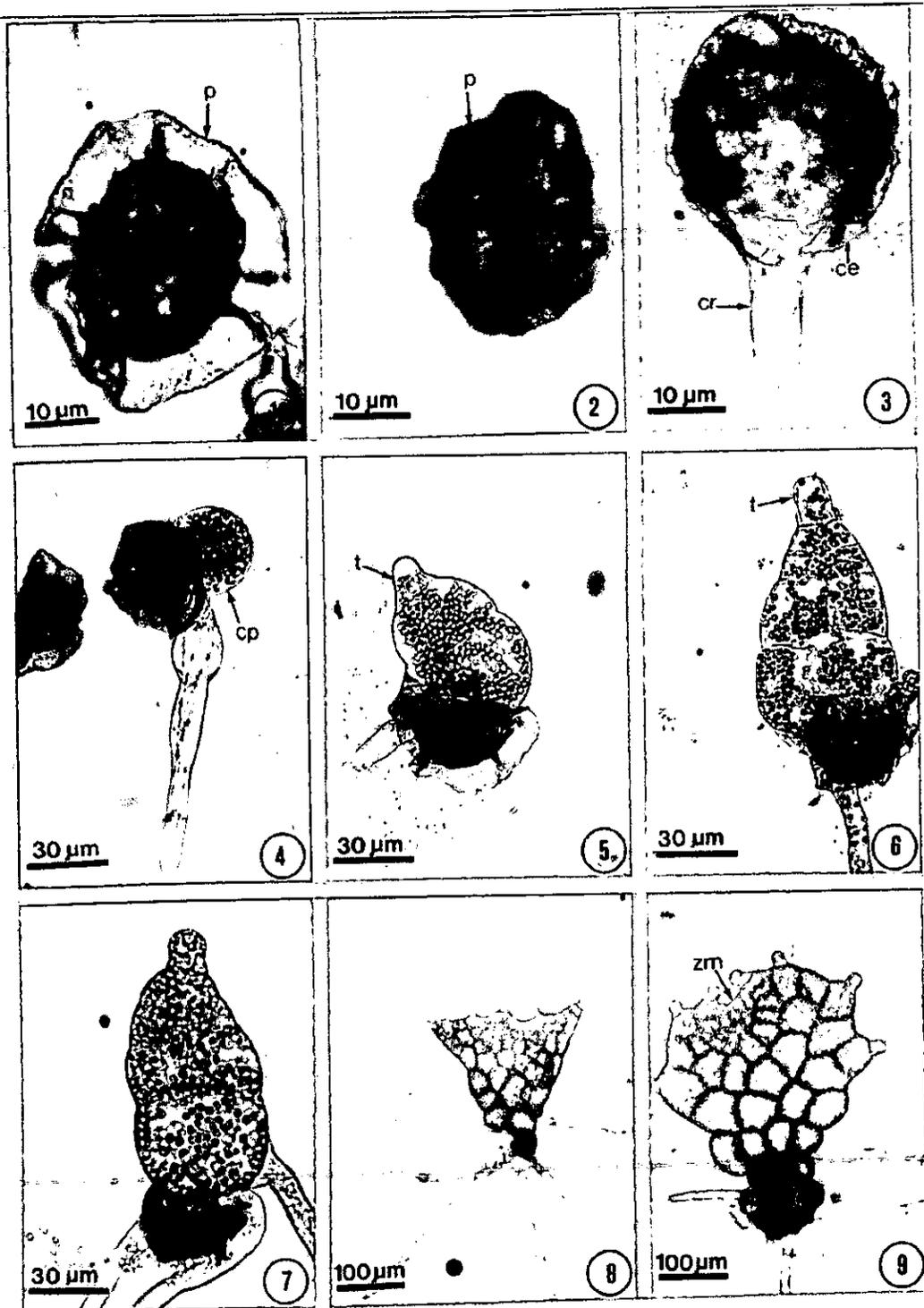
MATERIALS AND METHODS

Spores of *O. cervina* were collected from living plants from the following site: Lote 69 in "Los Tuxtlas" Biological Station, between Laguna Azul and Laguna Seca, Mun. of San Andrés Tuxtla, in the state of Veracruz, Mexico; vouchers are in UAMIZ (AMR 202 and AMR 251). Spores of *O. alata* were collected by Carlos Sánchez and L. del Risco (77825) near Farallones de Moa, Farallón Redondo and La Escondida, Mun. Moa, Holguín province, Cuba; the voucher is in HAJM.

Fertile pinnae were kept in paper bags until spores were shed. Subsequently, the spores they shed material was passed through a sieve (with pores 0.074 mm in diameter) in order to eliminate traces of sporangia and indusia. Spores of each species were sown at an average density of 150-200 spores per cm² in two small pots with a mixture of black soil and organic matter and in 30 Petri dishes, 5 cm in diameter, containing Thompson's solution of mineral salts and agar on a sterile nutrient medium (Klekowski, 1969).

Petri dishes and pots were kept, inside transparent plastic bags, in order to avoid contamination and desiccation, with a photoperiod of 12 h light/darkness, with artificial light (75 Watt lamps, daylight) and a temperature of 23-25 °C (Mendoza et al., 1999a, 1999b). Two dishes were kept in darkness in order to determine photoblastism. After 100 days of sown spore not germination of darkness.

All pictures of microscopic material were taken from living material grown in the laboratory.



Figs. 1-9. Spores, germination, filamentous and laminar phases of *Olfersia*. 1. Spore, *O. alata*. 2. Spore, *O. cervina*. 3-4. Initial stages of germination. 3. *O. cervina* (8 days). 4. *O. alata* (22 days). 5-7. Germ filament. 5-6. *O. alata* (22 days). 7. *O. cervina* (22 days). 8-9. Young laminar phases. 8. *O. alata* (38 days). 9. *O. cervina* (35 days). *ce* = cover of spores, *cp* = prothallial cell, *cr* = rhizoid cell, *p* = perispore, *t* = trichome, *zm* = meristematic zone.

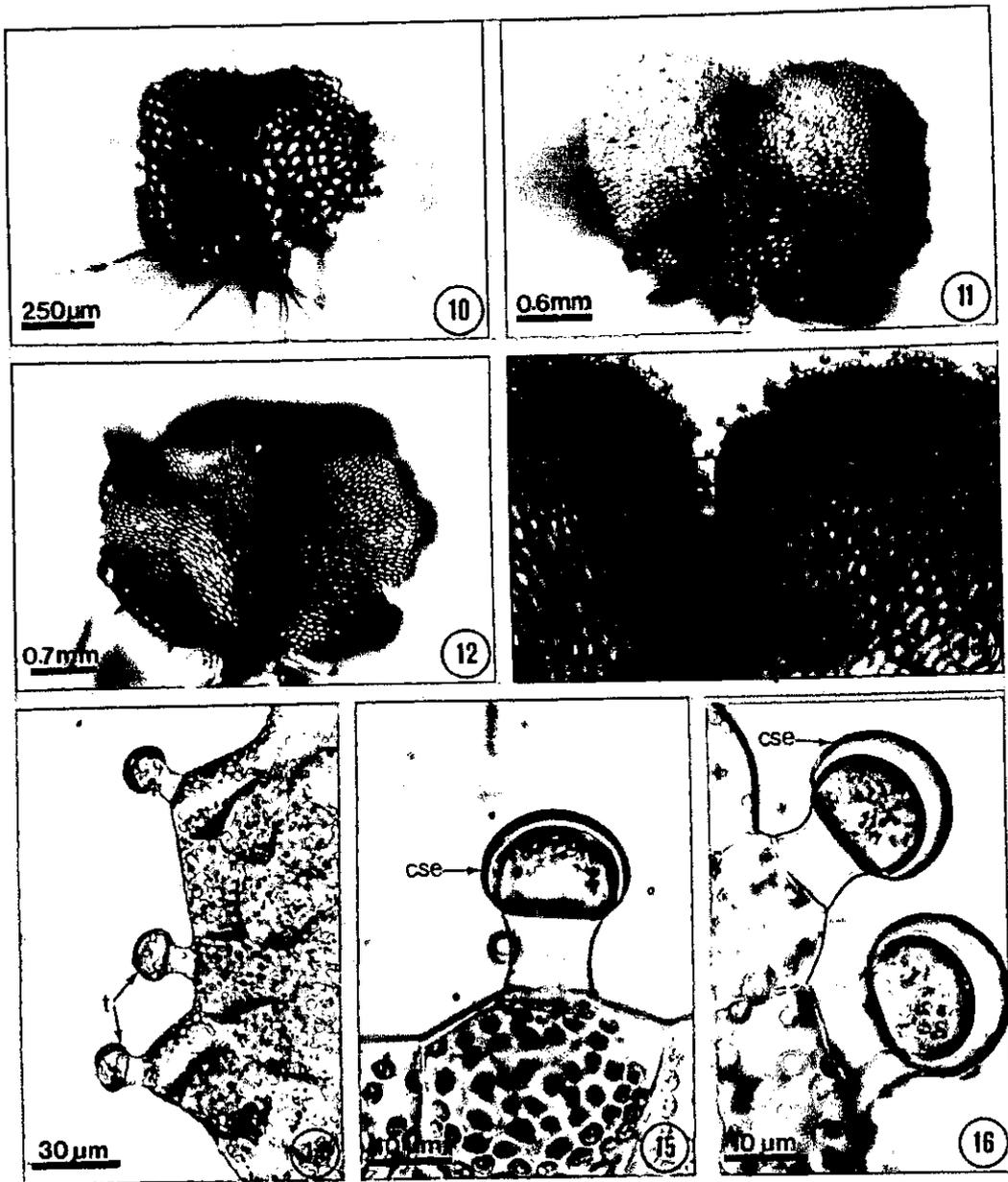
RESULTS

Spores of both species are monolete, nearly spherical, with a light brown perine. Spores of *Olfersia alata* measure 61 (63) 67 × 49 (52) 56 μm , including the winged perine around the spore; the perine measures 13 (17) 20 μm wide (Fig. 1). Spores of *O. cervina* measure 41 (45) 48 × 32 (37) 40 μm , also including the winged perine which measures 5 (7) 10 μm wide (Fig. 2). Spores of *O. alata* are larger than those of *O. cervina* primarily due to the size of the perine. This measure correspond to average of sample fifty spores por each specie.

Germination is *Vittaria*-type (Nayar & Kaur, 1971) in both species. In *Olfersia alata* germination began 20-23 days after spores were sown, whereas in *O. cervina* it began 8-12 days after sowing. Gametophytes of both species first develop a rhizoid, which is short, hyaline, and without chloroplasts. The first prothallial cell is short and oval; division begins in this cell with a transverse wall and ultimately forms a short, germ-filament 2-4 cells long. This filament eventually ends in an apical trichome. During this stage of development, the spores retain their coat (Figs. 3-5).

In *O. alata*, the prothallial plate begins to develop approximately 25 days after spore germination from intercalary cells of the filaments which undergo longitudinal divisions (Figs. 6-7). In some cases, the terminal cell of the filament, after producing a trichome, will divide longitudinally in such a manner that the trichome is placed over one of the daughter cells, which will remain inactive, until others cells develops into a gametophytic plate. From this plate meristematic cell will emerge and is usually asymmetric with an apex that continues to change and form a notch. Finally, after 90-100 days, the prothallial plate becomes cordiform, the so-called *Aspidium*-type prothallial plate development (Nayar & Kaur, 1969; Figs. 8-10). Afterwards, a cushion is formed heaving the gametangia forms and the adult gametophyte is cordiform-spatulate and bears many marginal and superficial trichomes. The formation of the prothallial plate in *O. cervina* takes less time, beginning on day 15, and the pattern of prothallial development is the same as in *O. alata*. The first adult cordiform gametophytes are completely differentiated 60-80 days after the spores were sown (Figs. 12-13).

Trichomes are unicellular, capitate, and secretory (Fig. 14). In *O. alata* they measure approximately 36 μm long by 23 μm wide at the base. The apical third of the trichome is globose, 17 μm high by 24 μm wide, with a thin cover of extracellular secretion ca. 3 μm thick (Fig. 15). *Olfersia*

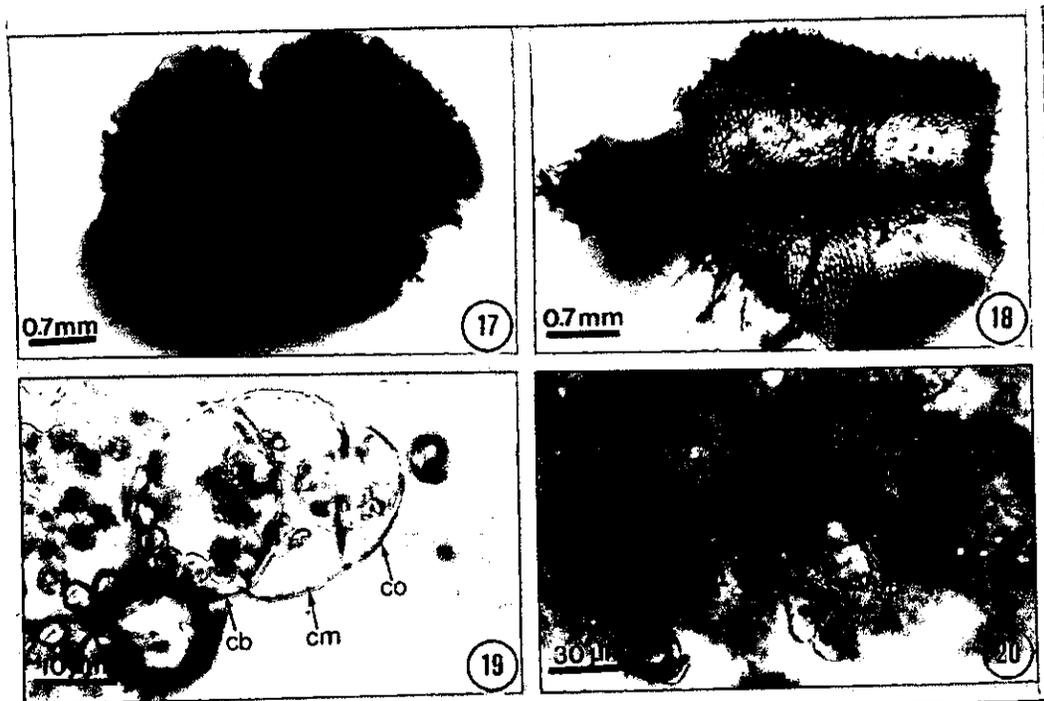


Figs. 10-16. Laminar gametophytes and secretory, unicellular, capitate trichomes of *Offersia*. 10-11. *O. cervina* (41 and 100 days). 12-13. *O. alata* (95 and 138 days). 14-16. Trichomes. 14. *O. cervina* (175 days). 15. *O. alata* (149 days). 16. *O. cervina* (175 days). a = archegonia, cse = extracellular secretion cover, t = trichome.

cervina trichomes are 34 μm long by 20 μm wide at the base and the apical third of the trichome is globose, 21 μm high by 26 μm wide, with an extracellular secretion 8 μm thick (Fig. 16). These measurements to adult trichomes, found at the middle basal region of the gametophytes.

The gametangia are typical of leptosporangiate homosporous ferns. They begin differentiating between days 120-244 in *O. cervina* while in *O. alata* they develop between days 100-150. Antheridia are distributed on the abaxial surface of the plate on the basal half of the cushion (Fig. 19). Antheridia are globose and consist of a basal cell, a ring cell, and an opercular cell. These three cells surround the androgenous cell.

In both species, the necks of the archegonia, have four tiers of neck cells. Archegonia are found on the central region of the plate, on the cushion, and near the meristematic zone. The necks are oriented toward the basal region of the gametophytes (Figs. 13, 20). Two hundred days after sowing the spores, the young sporophytes had not been formed.



Figs. 17-20. Adult gametophytes and gametangia of *Olfersia*. 17-18. Adult phases. 17-18. *O. alata* (109-158 days). 19-20. Gametangia. 19. Antheridium, *O. cervina* (246 days). 20. Mouths of archegonium, *O. alata* (138 days). ba = mouth of archegonium, cb = basal cell, cm = ring cell, co = opercular cell.

DISCUSSION AND CONCLUSION

There is literature dealing with the morphology of the gametophytic phase of ferns closely related to *Olfersia*, of the Dryopteridaceae (Old and New Worlds), e.g., *Arachniodes*, *Cyrtomium*,

Didymochlaena, *Dryopteris*, and *Polystichum* (Atkinson, 1973; Chandra & Nayar, 1970; Cousens, 1975; Kaur, 1977; Mendoza et al., 1999a, 1999b; Pérez-García et al., 1999; Stokey & Atkinson, 1954).

Spores of *O. alata* average $63 \times 52 \mu\text{m}$, including the winged perispore; spores of *O. cervina* average of $44 \times 36 \mu\text{m}$. Spores of *O. alata* seem much larger, but in reality, if the perispore is not considered, the spores are $46 \times 35 \mu\text{m}$, and the winged perispore is $17 \mu\text{m}$ wide or more in its widest part. Spores of *O. cervina* are $38 \times 30 \mu\text{m}$ and the perispore is approximately $7 \mu\text{m}$ wide on its widest part and tends to be more spherical, which is an indication that the spores of *O. alata* are a little smaller than in *O. cervina*. (Figs. 1, 2).

Both species share the same germination pattern, *Vittaria*-type, which is the most common type in ferns. In this type, the rhizoid develops first after the formation of a wall perpendicular to the polar axis of the spores. Eventually, the first prothallial cell divides by means of the formation of a perpendicular wall thus giving rise to two cells. The apical cell then divides again, giving rise to a short filament 2-4 cells long. The time for germination differs between two species; spores of *O. cervina* germinate faster (8-12 days) compared to spores of *O. alata* (20-22 + days).

Prothallial development in both species is of the *Aspidium*-type in which the germ filament commonly ends in a trichome, and the prothallial plate is formed by the activity of the intercalary cells of the filament. The adult gametophyte develops faster in *O. cervina* (60-80 days) than in *O. alata* (90-100).

Trichomes differ in size and in the thickness of the extracellular secretion; the longest ones, belong to *O. alata* ($36 \times 23 \mu\text{m}$), have a thinner extracellular secretion ($3 \mu\text{m}$), whereas trichomes of *O. cervina* are slightly shorter ($34 \times 20 \mu\text{m}$) and have a thicker ($8 \mu\text{m}$) extracellular secretion.

Olfersia. alata and *O. cervina* share features with the following dryopterid genera: *Arachniodes*, *Cyrtomium*, *Dryopteris*, *Phanerophlebia*, and *Polystichum* (Atkinson, 1973; Chandra & Nayar, 1970; Cousens, 1975; Mendoza et al., 1999b; Pérez-García et al., 1999). These genera all have monolet spores with perispore, a *Vittaria*-type germination pattern and an *Aspidium*-type prothallial development. However the two *Olfersia* species differ from the rest in the shape of their trichomes, which are short and wider at the base, capitate, with a globose apex, and with a dense extracellular secretion. The gametophyte margins are entire in *Olfersia*, compared with the lacerate margins of species of the other genera. These other genera also have longer, capitate trichomes, with very thin extracellular secretions distributed on the lacerate margins and on the surfaces of the plate (Table 1).

Olfersia alata and *O. cervina*, together with the above mentioned taxa, share some features with *Didymochlaena truncatula*, such as the monolete spores and *Vittaria*-type germination. This last species differs from the rest in that it has a prothallial development of the *Adiantum*-type, characterized by a differentiation of an apical meristematic cell during the early stages of the plate's formation. The gametophytes of *Didymochlaena*, are completely glabrous throughout their development, in contrast to the other species of Dryopteridaceae mentioned.

Based on our results, we conclude that *Olfersia alata* and *O. cervina* share characteristics such as the *Vittaria*-type germination pattern, *Aspidium*-type prothallial development, and unicellular capitate trichomes with a uniform extracellular secretion. These same characteristics are characteristic of species of *Arachniodes*, *Cyrtomium*, *Dryopteris*, *Phanerophlebia*, and *Polystichum* (Table 1). The most common feature of all of these genera is the development of an apical trichome during the filamentous stages of prothallial development. Gametophytes of *Didymochlaena truncatula* differ from these genera in having prothallial development of the *Adiantum*-type and lacking trichomes. Finally, with the exception of *Didymochlaena truncatula* we did not find important differences among the different taxa of the Dryopteridaceae.

ACKNOWLEDGMENTS

This paper is part of the MsC (Plant Biology) thesis *Morfogénesis de la fase sexual de pteridofitas mexicanas: familia Dryopteridaceae*, ("Morphogenesis of the sexual phase of Mexican Pteridophytes: family Dryopteridaceae) written by the Senior author, developed under the supervision of the co-authors of this paper. We especially thank Carlos Sánchez Villaverde for sending spores of *Olfersia alata*, without which this research would not have been possible; we thank Alan R. Smith for extremely valuable comments to the manuscript, Jorge Lodigiani for his photographic assistance, and all the anonymous reviewers for their suggestions and criticisms.

Table 1. Comparison of different stages of the prothallial development of *Olfersia alata*, and *O. cervina* with species of Dryopteridaceae.

Taxa/characters	Spores	Type of germination	Filamentous phase	Type of prothallial development and adult form	Trichomes	Antheridium	Archegonium
^{1,2} <i>Arachniodes</i>	Monolete, with perispore, measuring 30 × 42 μm	<i>Vittaria</i>	Long filaments (2-5 cells), with an apical trichome	<i>Aspidium</i> , cordiform gametophytes with lacerate margins	Unicellular, capitate, with a thin coat of extracellular secretion 2 μm	3 cells	4 rows of cells, each row with 4-6 cells
¹ <i>Cyrtomium</i>	Monolete with perispore, measuring 32 × 45 μm	<i>Vittaria</i>	Long filaments (2-5 cells), with an apical trichome	<i>Aspidium</i> , cordiform gametophytes, with lacerate margins	Unicellular, capitate	3 cells	4 rows of cells
² <i>Didymochlaena</i>	Monolete with perispore, measuring 30 × 37 μm	<i>Vittaria</i>	Short filaments (2-3 cells), apical trichome absent	<i>Adiantum</i> , cordiform-reniform gametophytes with entire margins	Absent throughout development	3-4 cells	4 rows of cells, each row with 4-6 cells
³ <i>Dryopteris</i>	Monolete with perispore, measuring 36 × 51 μm	<i>Vittaria</i>	Long filaments (2-5 cells), with an apical trichome	<i>Aspidium</i> , cordiform-reniform gametophytes with lacerate margins	Unicellular, capitate	3 cells	4 rows of cells, each row with 4-5 cells
<i>Olfersia alata</i>	Monolete with a broadly winged perispore, measuring 35 × 46 μm	<i>Vittaria</i>	Short filaments (2-4 cells), with an apical trichome	<i>Aspidium</i> , spatulate-cordiform gametophytes with entire margins	Unicellular, capitate with an extracellular secretion coat 3 μm thick	3 cells	4 rows of cells, each row with 4-5 cells
<i>O. cervina</i>	Monolete with a winged perispore, measuring 30 × 38 μm	<i>Vittaria</i>	Short filaments (2-4 cells), with an apical trichome	<i>Aspidium</i> , spatulate-cordiform gametophytes with entire margins	Unicellular, capitate with an extracellular secretion coat 8 μm thick	3 cells	4 rows of cells, each row with 4-5 cells
¹ <i>Polystichum</i>	Monolete with perispore, measuring 34 × 45 μm	<i>Vittaria</i>	Long filaments (2-8 cells), without trichomes	<i>Aspidium</i> , cordiform gametophytes with lacerate margins	Unicellular, pappilate capitate, secretors and non secretors	3-4 cells	4 rows of cells
⁴ <i>Phanerophlebia</i>	Monolete with perispore, measuring 25 × 33 μm	<i>Vittaria</i>	Long filaments (2-6 cells), with an apical trichome	<i>Aspidium</i> , spatulate-cordiform gametophytes with lacerate margins	Unicellular, capitate, with an extracellular secretion coat 1.5 μm thick	3-4 cells	4 rows of cells, each row with 4-6 cells

¹Chandra & Nayar 1970, ²Mendoza *et al.* 1999a, 1999b, ³Pérez-García *et al.* 1999. ⁴Mendoza, unpublished.

LITERATURE CITED

- Atkinson, L. M. 1973. The gametophyte and family relationships. In: A. C. Jermy, J. A. Crabbe & B. A. Thomas (Eds.). The phylogeny and classification of the ferns. J. Linn. Soc. Bot. Suppl. No.1, 67: 73-90.
- Chandra, P. & B. K. Nayar. 1970. Morphology of some polystichoid ferns. I. The gametophytes of *Arachniodes*, *Cyrtomium* and *Polystichum*. J. Linn. Soc. Bot. 63: 265-276.
- Cousens, M. I. 1975. Gametophyte sex expression in some species of *Dryopteris*. Amer. Fern. J. 60: 13-27.
- Kaur, S. 1977. Morphology of the prothallus and juvenile sporophytes of some species of *Dryopteris*. Proc. Indian Acad. Sci. 85: 163-171.
- Klekowski, E. J., Jr. 1969. Reproductive biology of the Pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. J. Linn. Soc. Bot. 62: 361-377.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999a. Morfología y anatomía del gametofito de *Didymochlaena truncatula* (Dryopteridaceae). Rev. Biol. Trop. 47: 87-93.
- _____. 1999b. Morfogénesis de la fase sexual del helecho *Arachniodes denticulata* (Dryopteridaceae). Rev. Biol. Trop. 47: 791-797.
- Moran, R. C. 1986. The neotropical fern genus *Olfersia*. Amer. Fern J. 76: 161-178.
- _____. 1995. Dryopteridaceae. Pages 210- 226. In: R. C. Moran & R. Riba, editors. Flora Mesoamericana, Vol. 1: Psilotaceae a Salviniaceae. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Nayar, B. K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. Phytomorphology 19: 179-188.
- ____ & _____. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. Bot. Rev. 37: 295-396.
- Pérez-García, B., A. Mendoza, I. Reyes & R. Riba. 1999. Morfogénesis de la fase sexual de seis especies mexicanas de helechos del género *Dryopteris* (Dryopteridaceae). Rev. Biol. Trop. 47: 63-75.
- Riba, R. & B. Pérez-García. 1999. Dryopteridaceae. Flora de México, Consejo Nacional de la Flora de México. A. C. 6: 1-48.

-
- Sánchez-Villaverde, C., M. García-Caluff & C. Zavaro-Pérez. 1991. Nueva especie cubana del género *Olfersia* (Polypodiaceae - Dryopteridaceae). *Fontqueria* 31: 229-233.
- Stokey, A. G. & L. R. Atkinson. 1954. The gametophyte of *Didymochlaena sinuata* Desv. *Phytomorphology* 4:310-315.

Estudio comparativo de la fase sexual del género *Phanerophlebia*

Resumen: se realiza un análisis comparativo de la morfología de las esporas, el patrón de germinación y el desarrollo protálico de la fase sexual del género *Phanerophlebia* para México. El material fue recolectado en diversas localidades de México previamente seleccionadas. Las esporas de todas las especies en estudio, fueron sembradas en cajas de Petri que contenían agar y medio de cultivo de Thompson, así como en pequeñas macetas que contenían tierra negra. Los cultivos se mantuvieron en un régimen de 12 hrs luz/oscuridad, entre 20-25 °C. Las esporas son monoletes, elipsoidales, con perisporio, de color pardo claro a pardo oscuro; el patrón de germinación es tipo *Vittaria* y el desarrollo protálico es tipo *Aspidium* en todas las especies. Los gametangios son del tipo de los helechos leptosporangiados. Las diferencias encontradas entre las especies fueron tiempo de germinación de las esporas (6-12 días), forma de los gametofitos de espatulado-cordiforme a cordiforme-reniforme, con márgenes lisos a muy lacerados; tiempo de formación de los tricomas (12-24 días) y de los gametangios (40-200 días). Después de 200 días en algunas especies se han formado y desarrollado las primeras hojas de los esporofitos. Por otra parte se hace un análisis comparativo del desarrollo protálico de estas especies, con algunas especies de los géneros *Arachniodes*, *Cyrtomium*, *Didymochlaena*, *Olfersia* y *Dryopteris*; con el fin de conocer la variación existente en la morfogénesis de la fase sexual de este grupo de plantas, que se encuentran ubicados en la familia Dryopteridaceae.

Key Words: Dryopteridaceae, gametophyte, Mexico, morphogenesis, *Phanerophlebia*, prothallus, Pteridophyta.

Phanerophlebia C. Presl, es un género con ocho especies y dos variedades, circunscritas a los trópicos del América. Que ha sido incluido ocasionalmente dentro del género asiático *Cyrtomium* C. Presl. Aparentemente ambos géneros se han derivado independientemente de *Polystichum* Roth, en América y Europa respectivamente, por lo que en el presente trabajo sólo será objeto de estudio el género americano. El cual está representado por las siguientes *Phanerophlebia auriculata* Underw., *Phanerophlebia gastonyi* Yatsk., *Phanerophlebia juglandifolia* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) J. Sm., *Phanerophlebia macrosora* (Baker) Underw., *Phanerophlebia nobilis* (Schltdl. & Cham.) C. Presl variedad *nobilis*, *Phanerophlebia nobilis* (Schltdl. & Cham.) variedad *remotispora* (E. Fourn.) Yatsk., *Phanerophlebia pumila* (M. Martens & Galeotti) Fée y *Phanerophlebia umbonata* Underw (Yatskievych & Riba, 1999).

Este grupo de plantas, se distribuye desde el sur de los Estados Unidos y México (Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Sonora, Sinaloa, Tamaulipas, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Querétaro, San Luis Potosí, Distrito Federal, Estado de México, Morelos, Puebla, Tlaxcala, Chiapas,

Oaxaca y Veracruz) hasta América Central, Venezuela y las Islas Españolas. Crecen entre los 800 y los 3200 m snm, en bosques de pino-encino, bosques mesófilos de montaña y selvas altas perennifolias.

Todas las especies se caracterizan por ser plantas terrestres, perennes; con rizoma corto, postrado a erecto, a veces ramificado, escamoso, cubierto con raíces adventicias y con las bases de los pecíolos persistentes; las hojas son monomorfas, cartáceas a subcoriáceas; el raquis y la costa por lo común algo escamoso, sulcados adaxialmente; las pínulas son asimétricas, subcordiformes a cuneadas en la base, a veces con una aurícula basal acroscópica, espinuloso-semulada en el margen; los soros son terminales o aparentemente laterales sobre las venas en (1)2-4 series entre la costa y el margen, sus esporas son monoletes, de color pardo oscuro, la perina presenta pliegues prominentes, el número cromosómico es $n=41$ (Yatskievych, 1996).

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizaron varios viajes de recolección a localidades previamente seleccionadas, en diferentes estados de México (Cuadro 1), con el fin de coleccionar las plantas fértiles de las diversas especies y así obtener esporas para realizar el trabajo de laboratorio, los ejemplares de respaldo se encuentran depositados en el herbario UAMIZ.

Las pinnas fértiles se guardaron en bolsas de papel para la liberación de las esporas, posteriormente se tamizaron con una malla metálica con poros de 0.074 mm de diámetro, para eliminar restos de esporangios e indusios. Las esporas se sembraron en cajas de Petri de cinco cm de diámetro (20 cajas por especie con tres repeticiones), que contenían agar y medio de cultivo de Thompson previamente esterilizado (Klekowski 1969). Las esporas fueron esparcidas con un pincel de pocas cerdas sobre la superficie del medio solidificado, con una densidad promedio de 150-200 por cm^2 ; de igual forma se sembraron esporas de cada especie, en pequeñas macetas de cinco cm de diámetro con tierra negra (Mendoza *et al.* 1999a, 1999b).

Las cajas y las macetas se mantuvieron dentro de bolsas de plástico transparente para evitar contaminación y desecación, con un fotoperiodo de 12 hrs luz/oscuridad, con luz artificial (lámparas de 75 Watts, luz de día), a una temperatura de 20 a 25 °C.

El tamaño de las esporas se obtuvo con un microscopio compuesto, equipado con una reglilla micrométrica ocular. Se realizaron cincuenta medidas por cada especie. Las observaciones de las

esporas, se realizó en un microscopio compuesto, así como también fueron examinadas en un microscopio electrónico de Barrido (MEB) DSM 94DA.

Las fotomicrografías de las espores fueron tomadas en un MEB, las cuales fueron deshidratadas y montadas en portamuestras, las cuales fueron recubiertas con un baño de oro/paladio.

La mayoría de las fotomicrografías fueron tomadas de material vivo cultivado en el laboratorio.

Cuadro 1. Especies recolectadas en el campo.

<i>Phanerophlebia auriculata</i>	AMR-296	Ca. 10 km después de Zaragoza, rumbo a La Encantada, Mpio. Gral. Zaragoza, Nuevo León.	BEP, 2200 m
<i>P. gastonyi</i>	AMR-248	Ca. de 13 km al N de Berriozábal rumbo a Las Maravillas, Mpio. Berriozábal, Chiapas.	SAP, 1140 m
<i>P. juglandifolia</i>	JBFXC No. Catálogo 86-137 86-149	Jardín botánico: Francisco Xavier Clavijero (JBFXC), Instituto de Ecología, A. C. de Xalapa, Veracruz. (Loc. Original: Reserva ecológica El Ocote, Mpio. Ocozacoautla de Espinas, Chiapas).	SAP, 750 m
<i>P. macrosora</i>	AMR-393	Cañada de Agua Fría, al oeste de Omiltemi, camino de Omiltemi-Las Joyas, Mpio. de Chilpancingo de los Bravo, Guerrero.	BMM, 2400 m
<i>P. nobilis</i> var. <i>nobilis</i>	AMR-161 AMR-162	Los Dinamos, 2ª sección, Delg. Magdalena Contreras, México, D. F.	BEA, 2700 m
	AMR-184 AMR-185	El Mirador, 2 km después de Molango, rumbo a Zacualtípán, sobre la carretera 105, Mpio. de Molango, Hidalgo.	BE, 1650 m
	AMR-187 AMR-189 AMR-192	3.6 km después de Ismolintla, sobre la brecha que conduce a Eloxochitlán, Mpio. de Molango, Hidalgo.	BPE, 1620 m
<i>P. nobilis</i> var. <i>remotispora</i>	AMR-201 AMR-212	3 km al W de Orizaba, rumbo a Cd. Mendoza, autopista México-Puebla, Veracruz.	BMM, 1230 m
<i>P. pumila</i>	AMR-270 AMR-271	Llano de las Flores, km 130 de la carretera Oaxaca-Tuxtepec, 35 km después de Ixtlán rumbo a Tuxtepec, Oaxaca.	BPE, 2880 m
<i>P. umbonata</i>	AMR-227	Ca. 1.5 km después de El Platanito, carretera Cd. del Maíz - El Naranjo, Mpio. Ciudad del Maíz, San Luis Potosí.	BMM, 900 m

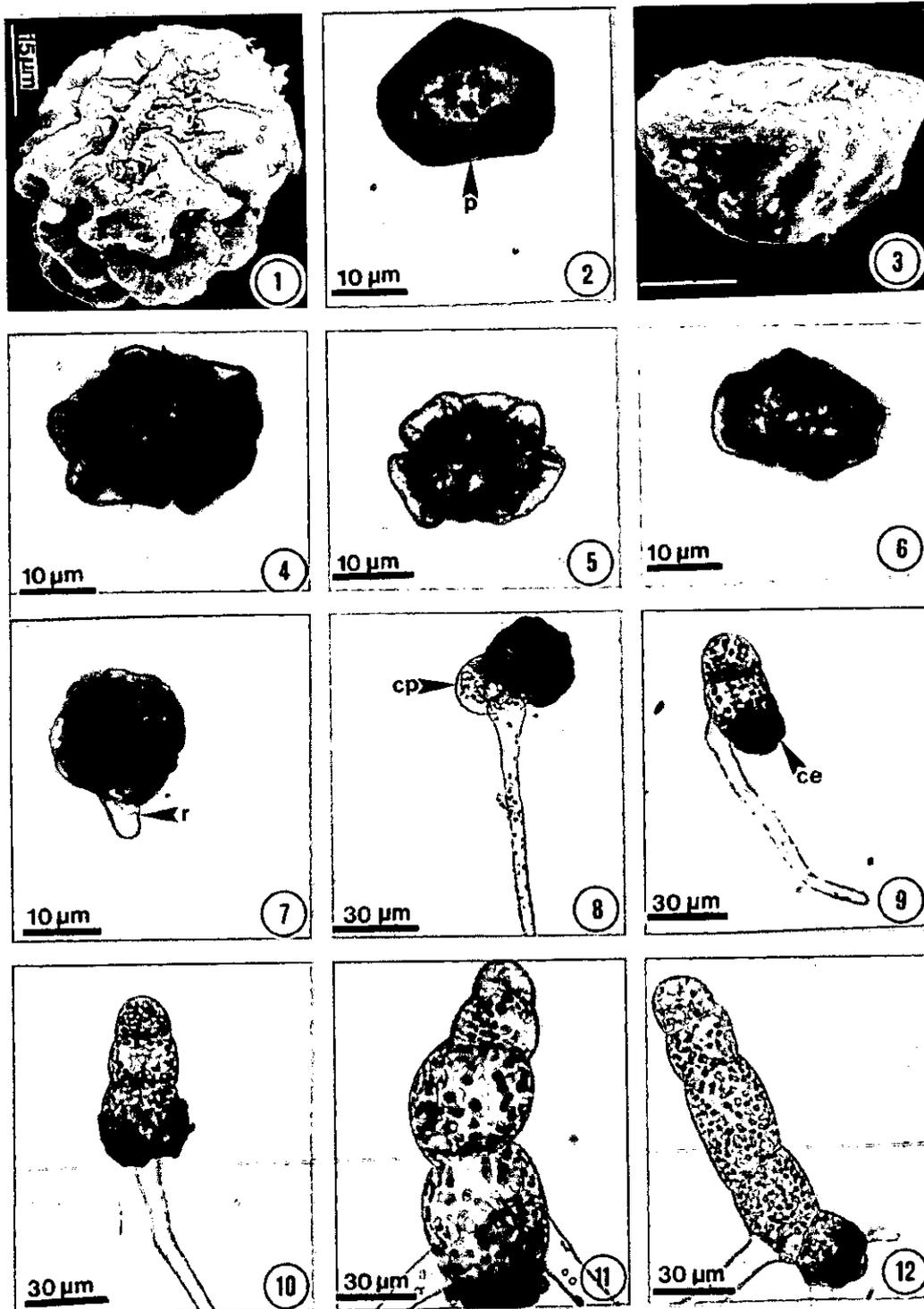
AMR (Aniceto Mendoza Ruiz); **JBFXC** (Jardín Botánico: Francisco Xavier Clavijero); **BE** (bosque de encino), **BEA** (bosque de encino con *Abies*), **BEP** (bosque de encino-pino), **BMM** (bosque mesófilo de montaña), **BPE** (bosque de pino-encino) y **SAP** (selva alta perennifolia); **Mpio.** (municipio), **m** (metros sobre el nivel del mar).

RESULTADOS

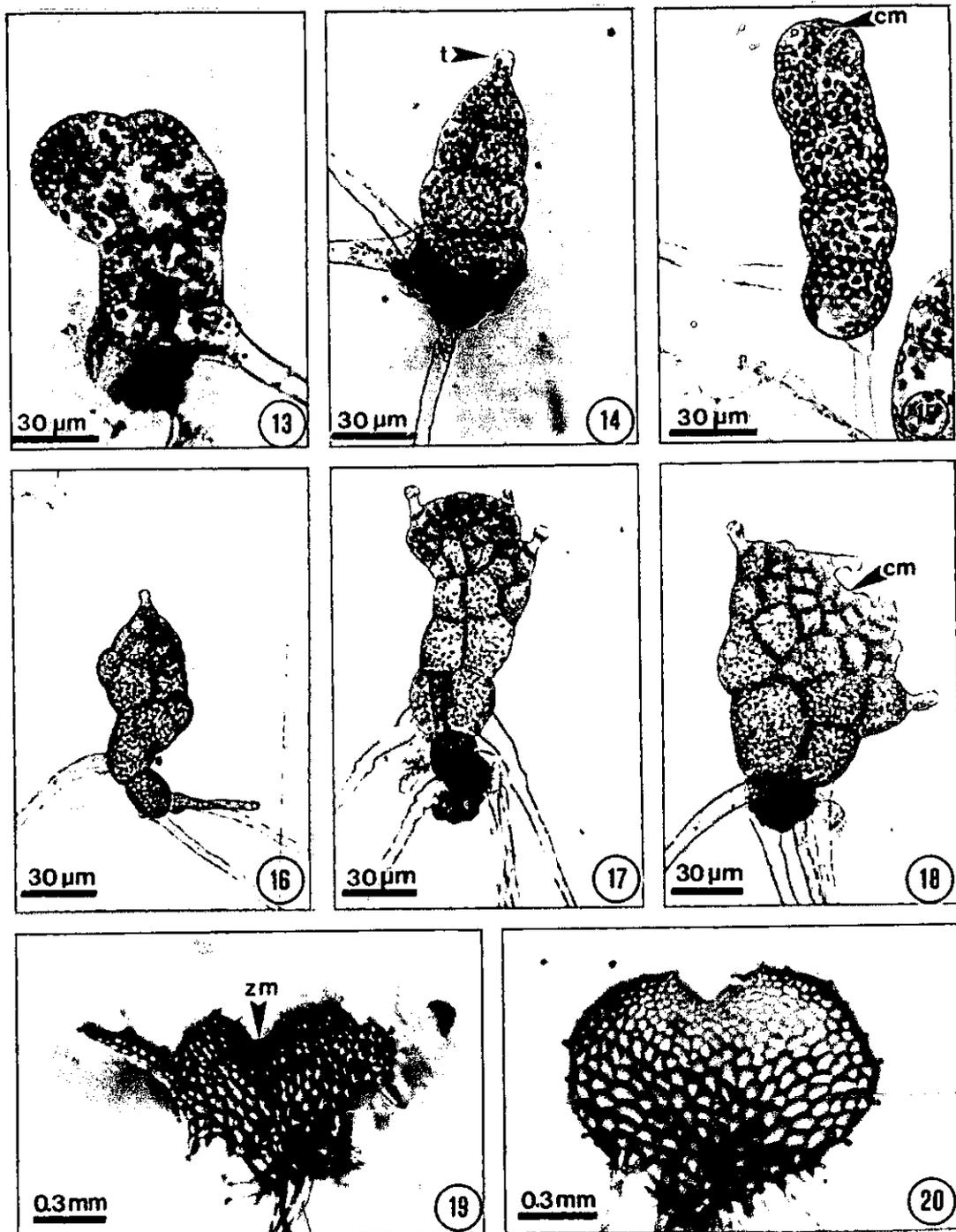
Esporas: son monoletes, elipsoidales a esferoidales, algunas veces grandes y comprimidas, con un perisporio irregularmente papilado a tuberculado y con pliegues alados, de color pardo oscuro, miden $32 \times 44 \mu\text{m}$ en promedio; pero se ha encontrado una variación en cuanto a el tamaño de las esporas; las más pequeñas miden $26 \times 36 \mu\text{m}$ (*Phanerophlebia nobilis* var. *remotispora*) y las más grandes miden $40 \times 52 \mu\text{m}$ (*Phanerophlebia gastonyi*) (Figs. 1-6).

Germinación: las esporas inician su germinación entre los 6-12 días, después de haber sido sembradas, y en todas las especies se presenta un patrón de germinación tipo *Vittaria* (Nayar y Kaur 1971), caracterizado por el desarrollo inicial de la célula rizoidal, que es corta, hialina y sin cloroplastos, formada por una pared perpendicular al eje polar, y posteriormente se desarrolla la célula protálica inicial (Figs. 7-8). La célula inicial se divide por una pared horizontal formando dos células, la célula apical a su vez se divide paralelamente formando más tarde (12-21 días) un filamento germinativo de 2-5 células de longitud con abundantes cloroplastos (Figs. 9-12). La mayoría de los filamentos germinativos de todas las especies forman un tricoma unicelular capitado de posición apical.

Fase laminar: la diferenciación de esta fase es asincrónica en todas las especies, ya que la formación ocurre en un lapso que va de los 18 y los 50 días. Todas las especies, incluyendo las dos variedades, de *Phanerophlebia*, presentan un patrón de desarrollo protálico tipo *Aspidium* (Nayar y Kaur, 1969), que comienza con la formación de un filamento uniseriado de 2 a 5 células de longitud, y generalmente la célula terminal forma un tricoma, por lo que este tipo de desarrollo se caracteriza por la formación de tricomas en fases tempranas del desarrollo de los gametofitos (Fig. 14). La formación de la lámina protálica se inicia a partir de las células intercalares del filamento, a través de divisiones longitudinales, o en algunos casos a partir de la célula terminal del filamento. Después de formar el tricoma, las células se dividen longitudinalmente, de tal forma que el tricoma queda colocado sobre una de las células resultantes, está célula que lleva el tricoma queda inactiva mientras que la otra célula se sigue dividiendo y forma una lámina protálica joven (Figs. 14 y 16), en la cual se diferencia una célula meristemática que posteriormente va a formar el gametofito adulto. Este generalmente es asimétrico en sus primeras etapas de desarrollo, pero finalmente se hace cordiforme. La lámina protálica puede también formarse antes de la aparición de los tricomas, por medio de la división



Figs. 1-12. Esporas monoletes, germinación y fases filamentosas de *Phanerophlebia* spp. 1-6. Esporas, 1. *P. gastonyi* (SEM, x 1500), 2. *P. macrosora*, 3. *P. pumila* (SEM, x 1500), 4. *P. juglandifolia*, 5. *P. nobilis* var. *nobilis* y 6. *P. umbonata*; 7-8. Germinación, 7. *P. juglandifolia* (10 días), 8. *P. pumila* (12 días); 9-12. Fases filamentosas, 9-10. *P. auriculata* (12 días), 11. *P. umbonata* (11 días), 12. *P. nobilis* var. *nobilis* (18 días). ce= cubierta de la espora, cp= célula protálica, p= perisporio, r= rizoides.



Figs.13-20. Diversas etapas de desarrollo de los gametofitos de *Phanerophlebia* spp. 13-15. Fases filamentosas, 13. *P. juglandifolia* (21 días), 14. *P. macrosora* (13 días), 15. *P. gastonyi* (19 días); 16-20. Fases laminares, 16. *P. nobilis* var. *nobilis* (22 días), 17. *P. macrosora* (25 días), 18. *P. gastonyi* (24 días); 19-20. Fases laminares, 19. *P. umbonata* (58 días), 20. *P. gastonyi* (41 días). cm= célula meristemática, t= tricoma, zm= zona meristemática.

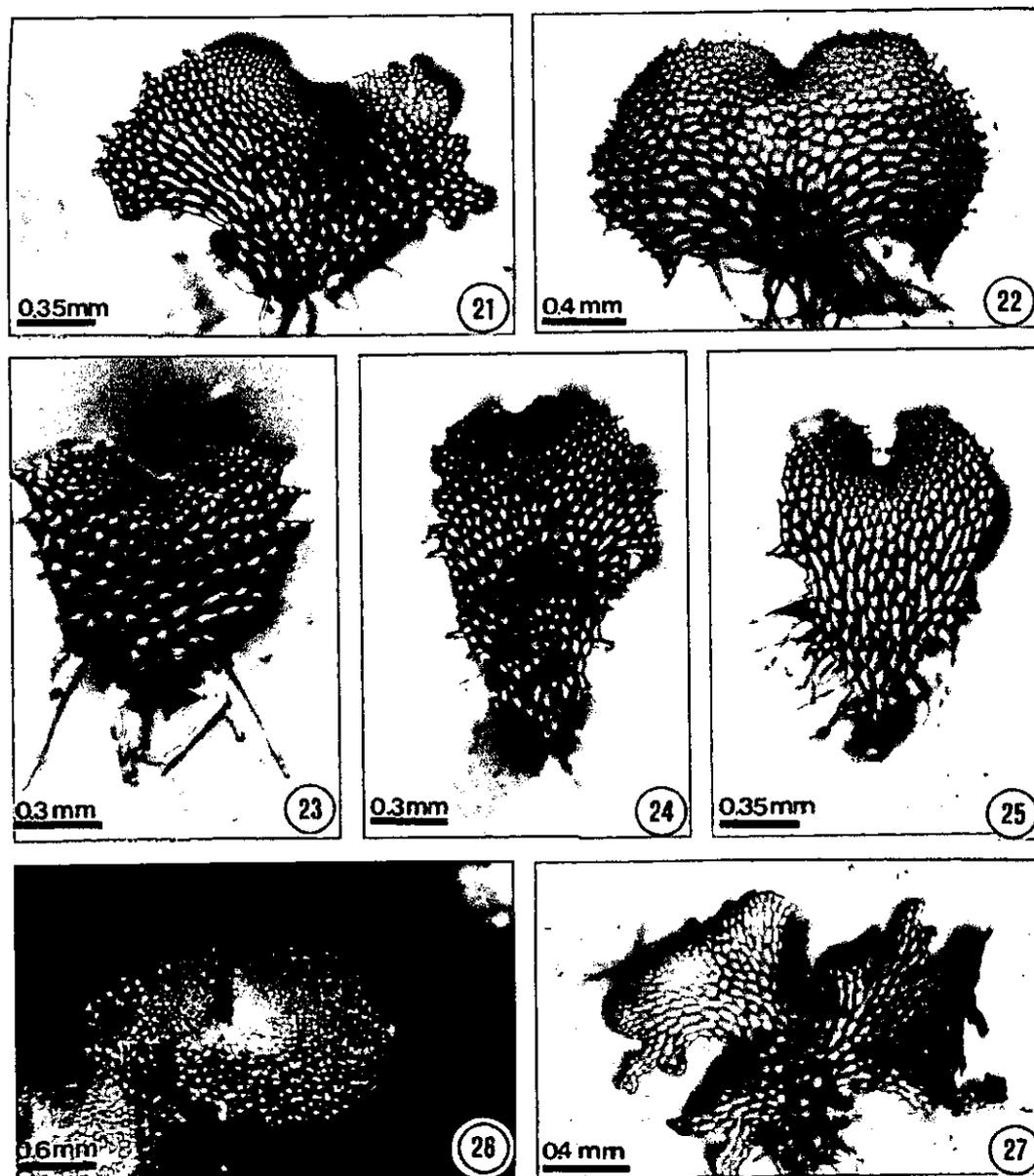
de las células terminales del filamento (Figs. 13 y 15), formándose una célula meristemática que más tarde es reemplazada por un meristemo pluricelular el cual origina una muesca en la parte apical del prótalo. A partir de este meristemo se inicia la formación de los gametofitos adultos, en los cuales se diferencia un cojinete (costilla media) y en ellos se forman los gametangios (Figs. 17-20).

P. auriculata, sus gametofitos cuando jóvenes, son espatulados, y conforme pasa el tiempo, éstos se vuelven cordiformes a cordiforme-reniformes, con amplias alas, un cojinete delgado y corto (Figs. 21, 28, 31, 36); los márgenes de los gametofitos son irregularmente lacerados con tricomas unicelulares (pequeñas protuberancias formadas por grupos de 1-5 células con un tricoma en el ápice, que sobresalen de los márgenes de los gametofitos); los tricomas son capitados, cortos, de 25 μm de largo por 15 μm de ancho en la base, con una pequeña capa de secreción en el ápice de 1 μm de grosor (Fig. 40).

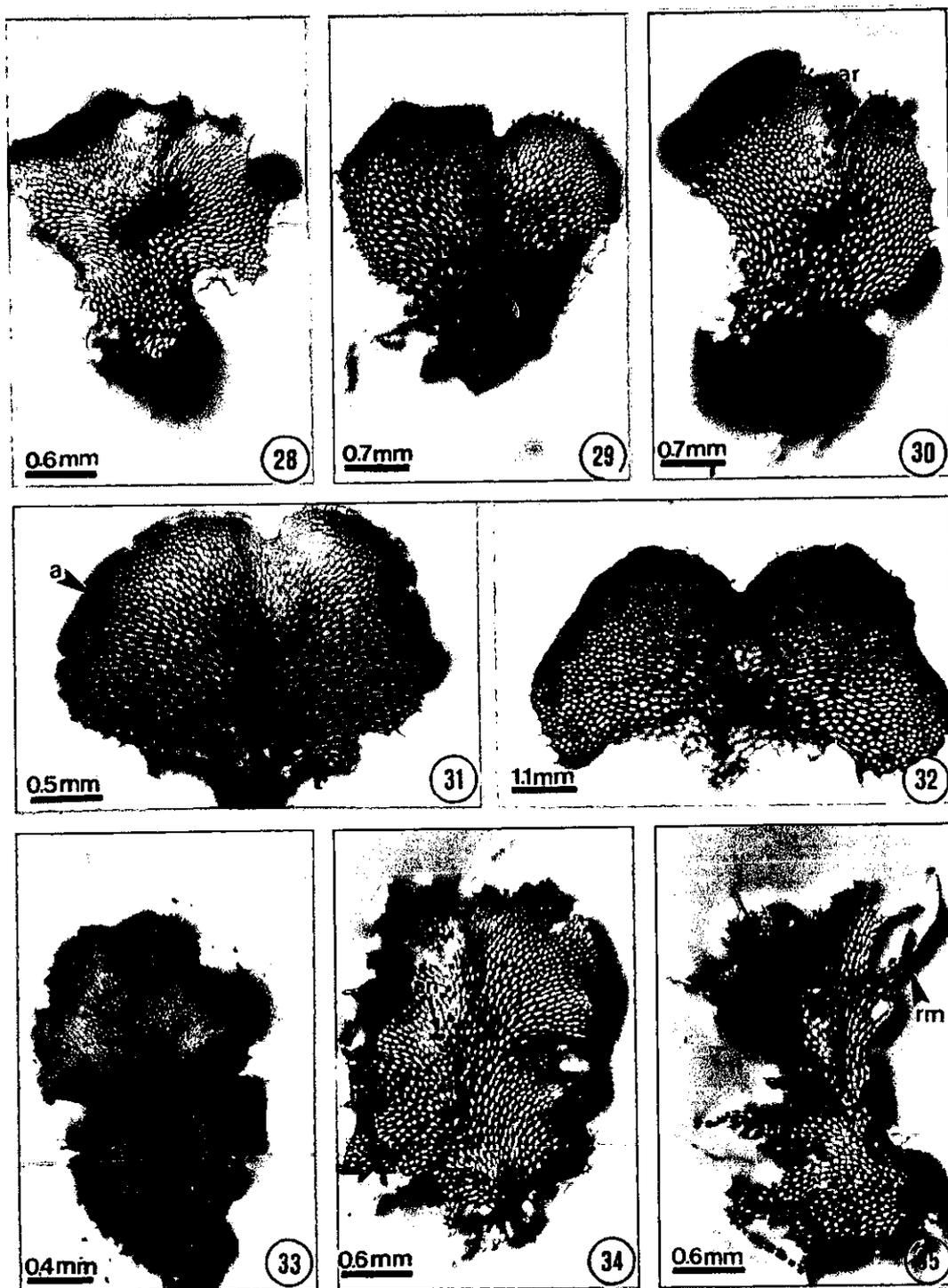
P. gastonyi, sus fases laminares jóvenes son cordiformes, volviéndose cordiforme-reniformes a reniformes en la madurez, presentan un cojinete corto y las alas muy desarrolladas, y una zona meristemática central (Figs. 20, 22, 29, 39). Los márgenes de los gametofitos son regulares a ligeramente lacerados en la base, con abundantes tricomas unicelulares, capitados, con el ápice redondeado, de 44 μm de largo por 19 μm de ancho en la base, estos presentan una cubierta de secreción extracelular de 3 μm de grosor.

P. juglandifolia, sus gametofitos jóvenes son cordiforme-espatulados (Fig. 23) y una vez desarrollados y en etapas adultas, la mayoría son cordiformes, con un cojinete poco diferenciado y alas amplias con los márgenes regulares a ligeramente lacerados; los tricomas son unicelulares, capitados con el ápice redondeado, de 30 μm de largo por 15 μm de ancho en la base, estos presentan una cubierta de secreción extracelular de 2 μm de grosor.

P. macrosora presenta gametofitos espatulados y conforme éstos se desarrollan se hacen cordiformes (Figs. 25-26, 30), el cojinete es delgado y las alas son amplias. La zona meristemática es central, formando una pequeña muesca en la región apical del gametofito; los tricomas son unicelulares, capitados, con el ápice redondeado, miden 36 μm de largo por 20 μm de ancho en la base, con una delgada capa de secreción extracelular de 1.5 μm de grosor.



Figs. 21-27. Fases laminares de *Phanerophlebia* spp., 21. *P. auriculata* (49 días), 22. *P. gastonyi* (48 días), 23. *P. juglandifolia* (48 días), 24. *P. nobilis* var. *remotispora* (57 días), 25-26. *P. macrosora* (77-97 días), 27. *P. pumila* (73 días).



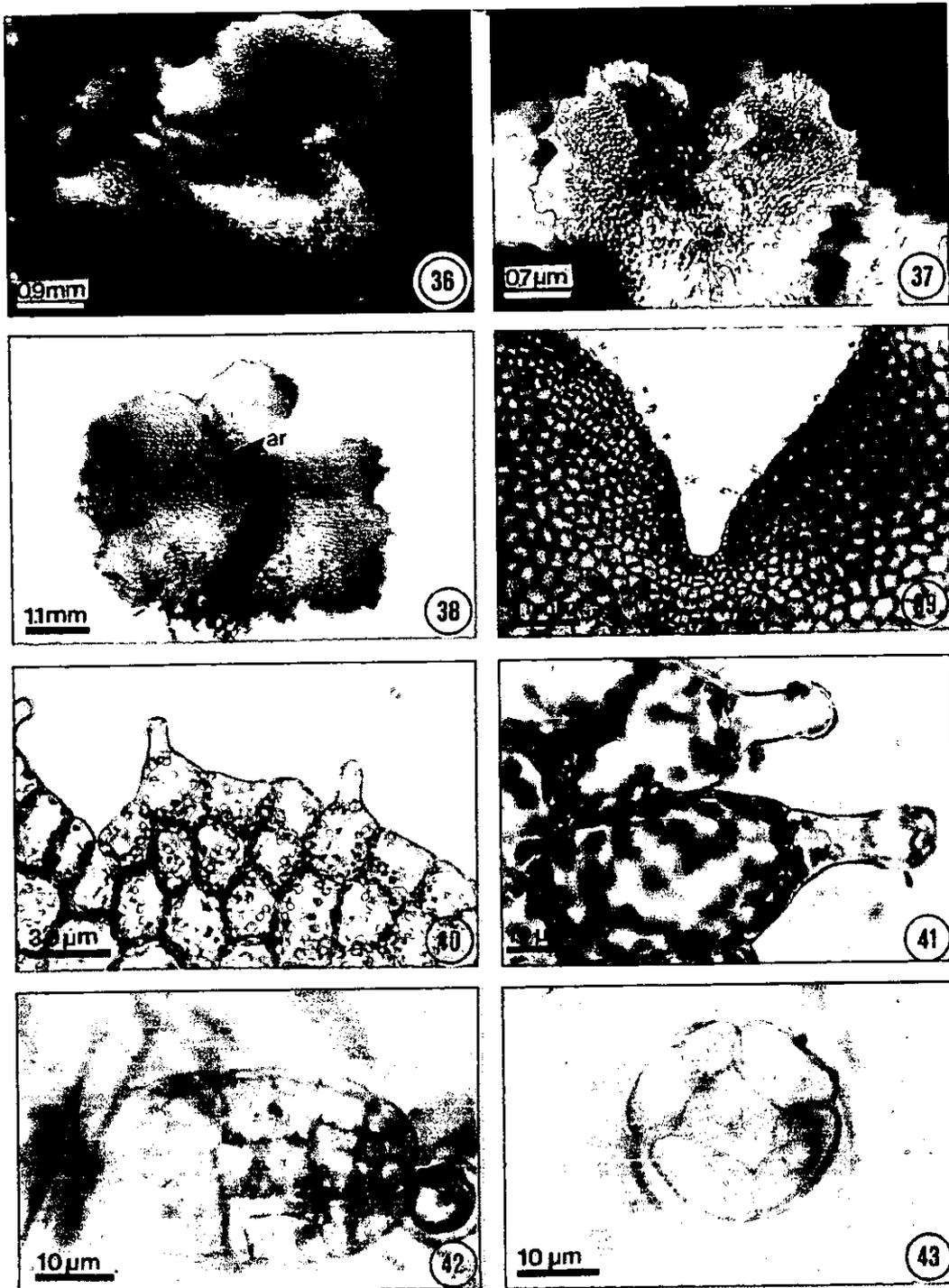
Figs. 28-35. Gametofitos adultos de *Phanerophlebia* spp. 28-30. Gametofitos con arquegonios, 28. *P. auriculata* (112 días), 29. *P. gastonyi* (90 días), 30. *P. macrosora* (95 días); 31-35. Gametofitos con anteridios, 31. *P. auriculata* (90 días), 32. *P. umbonata* (105 días), 33. *P. nobilis* var. *nobilis* (57 días); 34-35. *P. pumila* (85 días). a = alas, an = anteridios, ar = arquegonios, rm = ramas marginales.

P. nobilis var. nobilis, sus gametofitos laminares jóvenes son espatulados a cordiformes, pero a medida que estos crecen y se convierten en adultos, adquieren una forma de espatulado-cordiformes a cordiforme-reniformes (Figs. 33, 37); presentan un cojinete corto, con una zona meristemática bien diferenciada en la región apical del gametofito y las alas son amplias, con los márgenes regulares a ligeramente lacerados; los tricomas son unicelulares, capitados, con la porción apical semirredondeada, éstos son más largos que anchos, miden en promedio $37 \mu\text{m}$ de largo por $19 \mu\text{m}$ de ancho en la base, con una delgada capa de secreción extracelular de $2 \mu\text{m}$ de grosor.

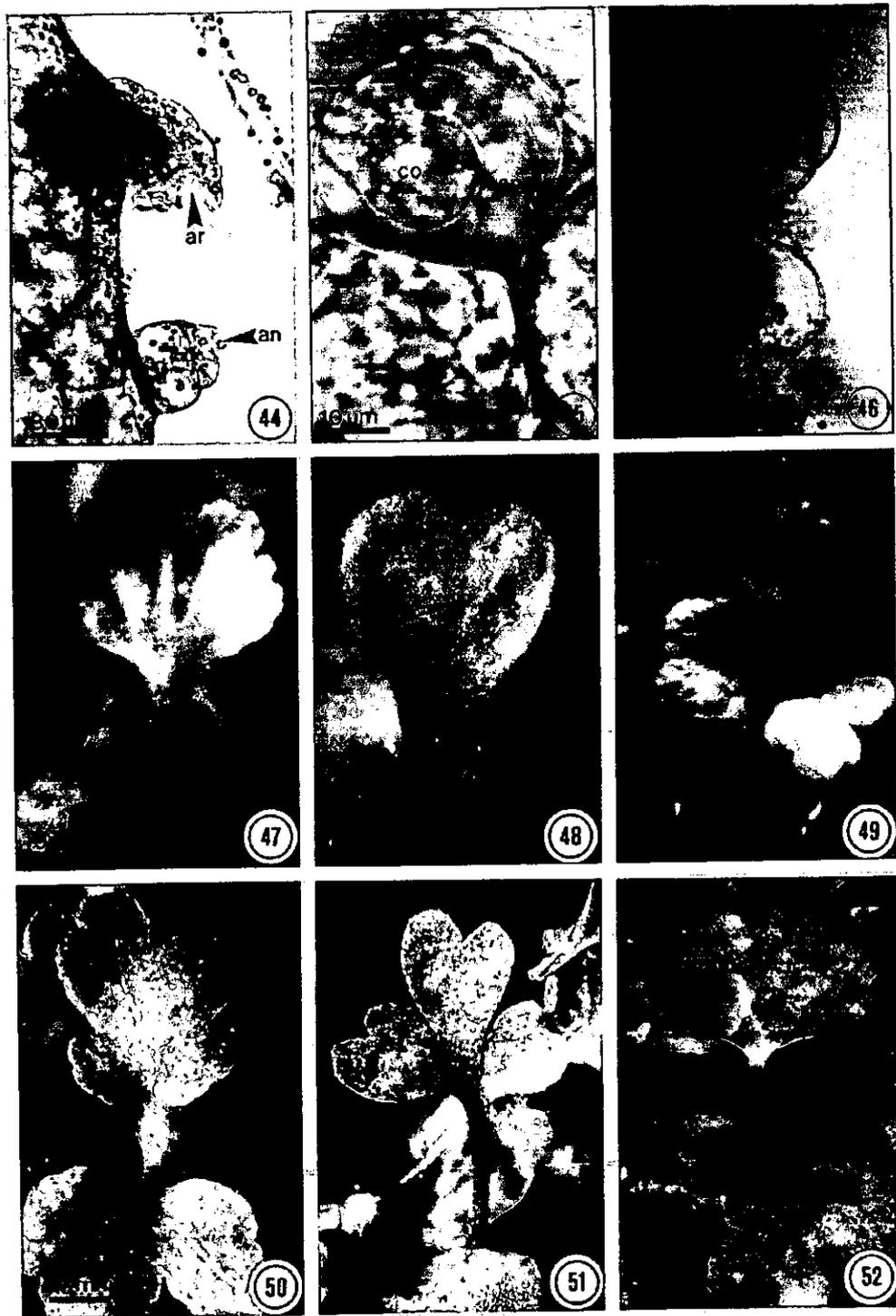
P. nobilis var. remotispora, sus gametofitos son espatulados cuando jóvenes y en estado adulto presentan formas espatulado-cordiformes a cordiformes (Fig. 24), con un cojinete no muy diferenciado y alas poco desarrolladas, los márgenes son irregulares y los tricomas son unicelulares capitados, alargados, de $33 \mu\text{m}$ de largo por $15 \mu\text{m}$ de ancho en la base, con una capa de secreción extracelular de $1.5 \mu\text{m}$ de grosor.

P. pumila, sus gametofitos son quizá los más variables, ya que en fases laminares jóvenes, presentan una forma espatulada muy irregular con pequeñas prolongaciones de la lámina, cuando adultos son espatulados-cordiformes, con márgenes muy irregulares con extensiones filamentosas uniseriadas de 5 a 10 células de longitud y con un tricoma terminal, o extensiones laminares, de 10 a 20 células de longitud (Figs. 27, 34-35). En menor proporción pueden desarrollar gametofitos cordiforme-reniformes con márgenes lacerados. Los tricomas de esta especie son unicelulares, capitados, de $39 \mu\text{m}$ de largo por $21 \mu\text{m}$ de diámetro en la base y una capa de secreción extracelular de $2 \mu\text{m}$ de grosor.

P. umbonata, sus gametofitos jóvenes son espatulado-cordiformes con márgenes irregulares y prolongaciones (Fig. 19), cuando llegan al estado adulto, adquieren forma espatulado-cordiformes con alas poco desarrolladas o bien cordiforme-reniformes con alas bien desarrolladas y cojinete poco diferenciado (Figs. 32, 38). Los márgenes de la lámina son ligeramente irregulares. Los tricomas, al igual que en el caso de las otras especies, son unicelulares, capitados, con una delgada capa de secreción extracelular de $1 \mu\text{m}$ de grosor, miden en promedio $30 \mu\text{m}$ de largo por $17 \mu\text{m}$ de ancho en la base (Fig. 41).



Figs. 36-43. Gametofitos adultos, tricomas y arquegonios de *Phanerophlebia* spp. Gametofitos adultos, 36. *P. auriculata* (218 días), 37. *P. nobilis* var. *nobilis* (95 días), 38. *P. umbonata* (145 días); 39. Zona meristemática central de *P. gastonyi* (91 días); 40-41. Tricomas marginales, 40. *P. auriculata* (140 días), 41. *P. umbonata* (145 días); 42. Cuello de arquegonio de *P. nobilis* var. *nobilis* y (84 días), 43. Boca de arquegonio de *P. nobilis* var. *remotispora* (84 días). ar= arquegonios.



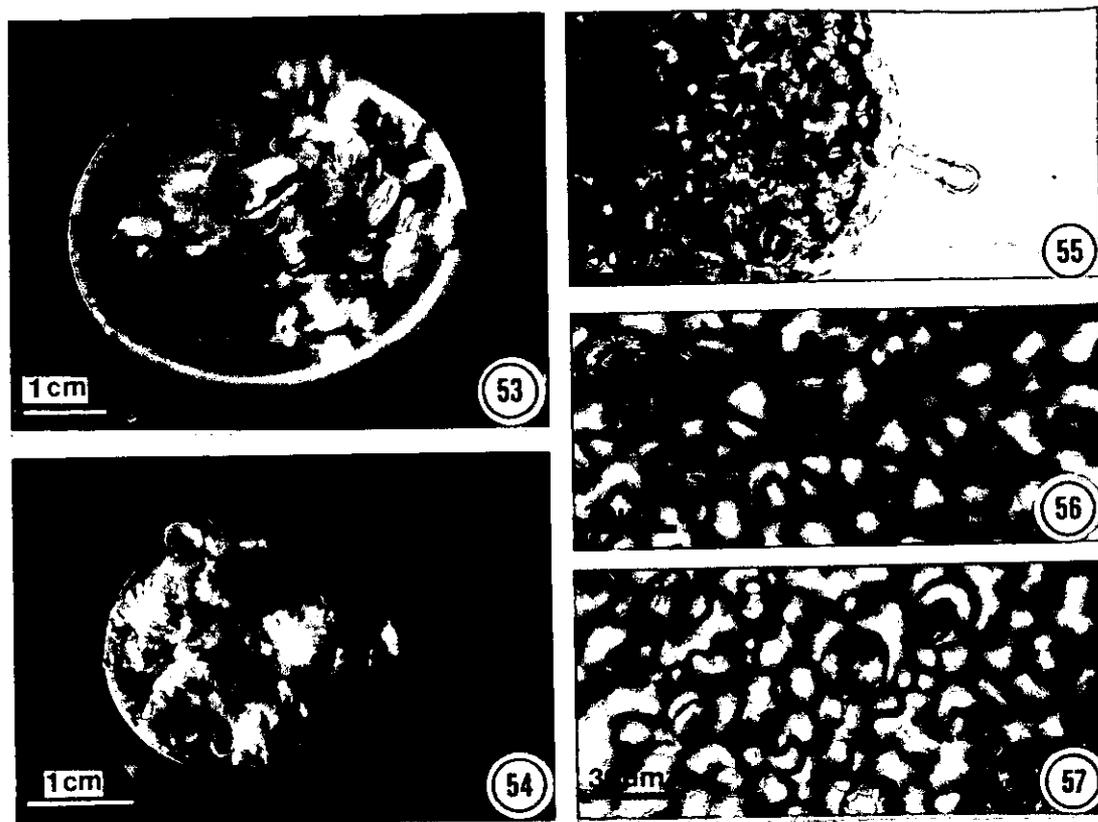
Figs. 44-52. Gametangios y primeras hojas de esporofitos de *Phanerophlebia* spp. 44. Cuello de arquegonio y anteridio de *P. juglandifolia* (119 días); 45-46. Anteridios de *P. nobilis* var. *nobilis* y (55 días); 47-52. Esporofitos, 47. *P. auriculata* (218 días), 48. *P. gastonyi* (218 días), 49. *P. juglandifolia* (163 días), 50. *P. nobilis* var. *remotispora* (261 días), 51. *P. pumila* (263 días), 52. *P. umbonata* (162 días). **an**= anteridio, **ar**= arquegonio, **az**= anterozoide, **cb**= célula basal, **cm**= célula media, **co**= célula opercular.

Gametangios: una vez que los gametofitos han alcanzado la madurez sexual (40-120 días), se inicia la diferenciación y la formación de los gametangios. En la mayoría de las especies los arquegonios son los primeros en formarse y posteriormente se desarrollan los anteridios.

Los arquegonios se forman entre los 45 y los 80 días a partir de la fecha de siembra, los cuellos están formados por cuatro hileras de células, cada hilera con 4 a 5 células de longitud; la boca de los arquegonios es de forma circular y está formada por cuatro células (Figs. 42-43). Todos los arquegonios se forman cerca de la zona meristemática, sobre el cojinete y están orientados hacia la región basal de los gametofitos (Figs. 38, 41).

Los anteridios se diferencian alrededor de los 65 y los 120 días, son elípticos a globosos, están formados por 1 a 2 células basales, una célula media y una célula opercular, las cuales cubren a la célula andrógena (Figs. 44-46). En la mayoría de las especies, la célula opercular se desprende en el momento de la liberación de los anterozoides, o en algunos casos permanece adherida a la célula media y la liberación de los anterozoides es a través de un poro como en *P. juglandifolia*.

Esporofitos: cabe destacar que las esporas de todas las especies también fueron sembradas en pequeñas macetas con tierra negra y todas formaron esporofitos. En *P. gastonyi*, *P. juglandifolia* y *P. umbonata* los esporofitos iniciaron su formación alrededor de los 120 días; *P. auriculata* y *P. nobilis* var. *nobilis* los formaron alrededor de los 150 días y en *P. nobilis* var. *nobilis* y *P. pumila* se formaron a partir de los 200 días. En todas las especies las primeras hojas son espatuladas a bi-trilobuladas con tricomas unicelulares, capitados, muy parecidos a los que se forman en los gametofitos (Figs. 47-55). En las primeras hojas de los esporofitos de este grupo de plantas, se han encontrado dos tipos de estomas, el tipo anomocítico (Fig. 56) que se encuentra en casi todas las especies y que se caracteriza por no presentar células subsidiarias y el tipo polocítico (Fig. 57) que se encuentra en *P. nobilis* var. *remotispora* que se caracteriza por presentar una célula subsidiaria que rodea al estoma (Van Cotthem, 1973).



Figs. 53-57. Esporofitos y estomas de *Phanerophlebia* spp. Esporofitos cultivados en tierra negra de, 53. *P. gastonyi* (218 días), 54. *P. umbonata* (200 días); 55-56. Margen de la primera hoja del esporofito y estomas de *P. umbonata*, 57. estomas de *P. nobilis* var. *remotispora*.

DISCUSIÓN

La fase gametofítica de las especies de *Phanerophlebia* que crecen en México, comparten características tales como esporas monoletes, un patrón de germinación tipo *Vittaria* y un desarrollo protálico tipo *Aspidium* (Nayar y Kaur 1969, 1971); la presencia de tricomas unicelulares en etapas tempranas del desarrollo y márgenes de la lámina ligeramente lacerados a muy lacerados. Como rasgo distintivo de los gametofitos de las especies de *Phanerophlebia* es que el filamento germinal termina comúnmente en un tricoma unicelular, y la lámina protálica se forma principalmente por la división de las células intercalares del filamento.

Las diferencias encontradas son el tamaño de las esporas, el tiempo de germinación de las espora y el desarrollo de las distintas fases del gametofito, así como el tiempo de formación de los tricomas

y de los gametangios y, el desarrollo de las primeras hojas del esporofito (veáse tabla D2 de discusión general).

BIBLIOGRAFÍA

- Klekowski, E. J., Jr. 1969. Reproductive biology of the Pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. *J. Linn. Soc. Bot.* 62: 361-377.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999a. Morfología y anatomía del gametofito de *Didymochlaena truncatula* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* 47: 87-93.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999b. Morfogénesis de la fase sexual del helecho *Arachniodes denticulata* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* 47: 791-797.
- Nayar, B. K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* 19: 179-188.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Bot. Rev.* 37: 295-396.
- Van Cotthem, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematic, p. 57-71. In: A.C. Jermy, J.A. Crabbe & B.A. Thomas (Eds.). *The phylogeny and classification of ferns*. Academic, Nueva York.
- Yatskievych, G. 1996. A revision of the fern genus *Phanerophlebia* (Dryopteridaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 83: 168-199.
- Yatskievych, G., and R. Riba. 1999. *Phanerophlebia*. pp. 26-38. In R. Riba & Pérez-García, B. *Dryopteridaceae. Flora de México* 6: 1-48.

**Morfogénesis de la fase sexual de *Stigmatopteris contracta* y *Stigmatopteris longicaudata*
(Dryopteridaceae)**

Resumen: Se describe la morfología de la espora y desarrollo de la fase sexual de *Stigmatopteris contracta* y *Stigmatopteris longicaudata*. El material fue recolectado en los estados de Oaxaca (México) y Costa Rica. Las esporas fueron sembradas en medio de Thompson con agar (20 cajas por especie). Sus esporas son monoletes con perina, elipsoidales, no clorofílicas. Su germinación es tipo *Vittaria* y su desarrollo protálico tipo *Aspidium*, el gametofito adulto es cordiforme-espátulado a cordiforme-reniforme; presentan tricomas marginales y superficiales, unicelulares, capitados; los rizoides no tienen cloroplastos; sus gametangios son del tipo común de los helechos leptosporangiados. Después de 200 días de haber sido sembradas las esporas, se formaron esporofitos.

Stigmatopteris C. Chr., este género tiene 25 especies, que se distribuyen desde el sureste de México (Chiapas, Oaxaca, Puebla, Veracruz) hasta el sureste de Brasil y en las Antillas. En México se encuentran tres especies *S. chimalapensis* Mickel & Beitel, *S. longicaudata* (Liebm.) C. Chr., *S. sordida* (Maxon) C. Chr., *S. contracta* (H. Christ) C. Chr. (endémica de Costa Rica), las cuales habitan en bosques mesófilos de montaña y selvas altas perennifolias, entre los 50 y los 2000 m snm. La característica más sobresaliente de este género es la presencia de glándulas internas puntiformes en la lámina; además presenta soros redondeados a ligeramente oblongos sin indusio en todas las especies, y las nervaduras que terminan antes del margen en un ápice claviforme, láminas que carecen de tricomas, con excepción de los surcos en el lado adaxial de los ejes de rizomas cortamente rastreros, y de láminas 1-pinnado pinnatífidas. El número cromosómico es $n=41$ (Moran, 1995).

En este estudio solo se incluyen a *Stigmatopteris longicaudata* de México y *Stigmatopteris contracta* endémica de Costa Rica, quedando excluidos de este estudio *Stigmatopteris chimalapensis* y *Stigmatopteris sordida* por no conseguir esporas para su cultivo.

MATERIAL Y METÓDO

Las esporas se obtuvieron, de guardar en bolsas de papel pinnas fértiles, obtenidas de ejemplares de *Stigmatopteris contracta*, recolectado en el campo en la localidad de Golfito, Provincia Puntarenas, Costa Rica (LDG-26734) y de *S. longicaudata* recolectado en el estado de Oaxaca, ca. De 2 km después de Vista Hermosa, rumbo a la Esperanza, sobre el km 77.6 de la carretera Tuxtepec-Oaxaca, Mpio. San Juan Comaltepec (AMR-276, AMR-305 y AMR-482). Los ejemplares de respaldo se encuentran depositados en el Herbario UAMIZ.

Una vez liberadas las esporas, se tamizaron con una malla metálica con poros de 0.074 mm de diámetro, para eliminar restos de esporangios e indusios. Las esporas fueron sembradas en 20 cajas de Petri de cinco cm de diámetro (para cada especie) que contenían medio de cultivo de Thompson en agar previamente esterilizado (Klekowski, 1969). Las esporas fueron esparcidas con un pincel de pocas cerdas sobre la superficie del medio solidificado, con una densidad promedio de 150-200 esporas por cm².

Los cajas se mantuvieron en condiciones de laboratorio dentro de bolsas de polietileno transparente, para evitar contaminación y desecación, con un fotoperíodo de 12 hrs luz-oscuridad con luz artificial (lámparas Solar 75 Watts, luz de día), a una temperatura de 20-28 °C; tres cajas se mantuvieron en la obscuridad para determinar fotoblastismo (Mendoza *et al.* 1999a, 1999b).

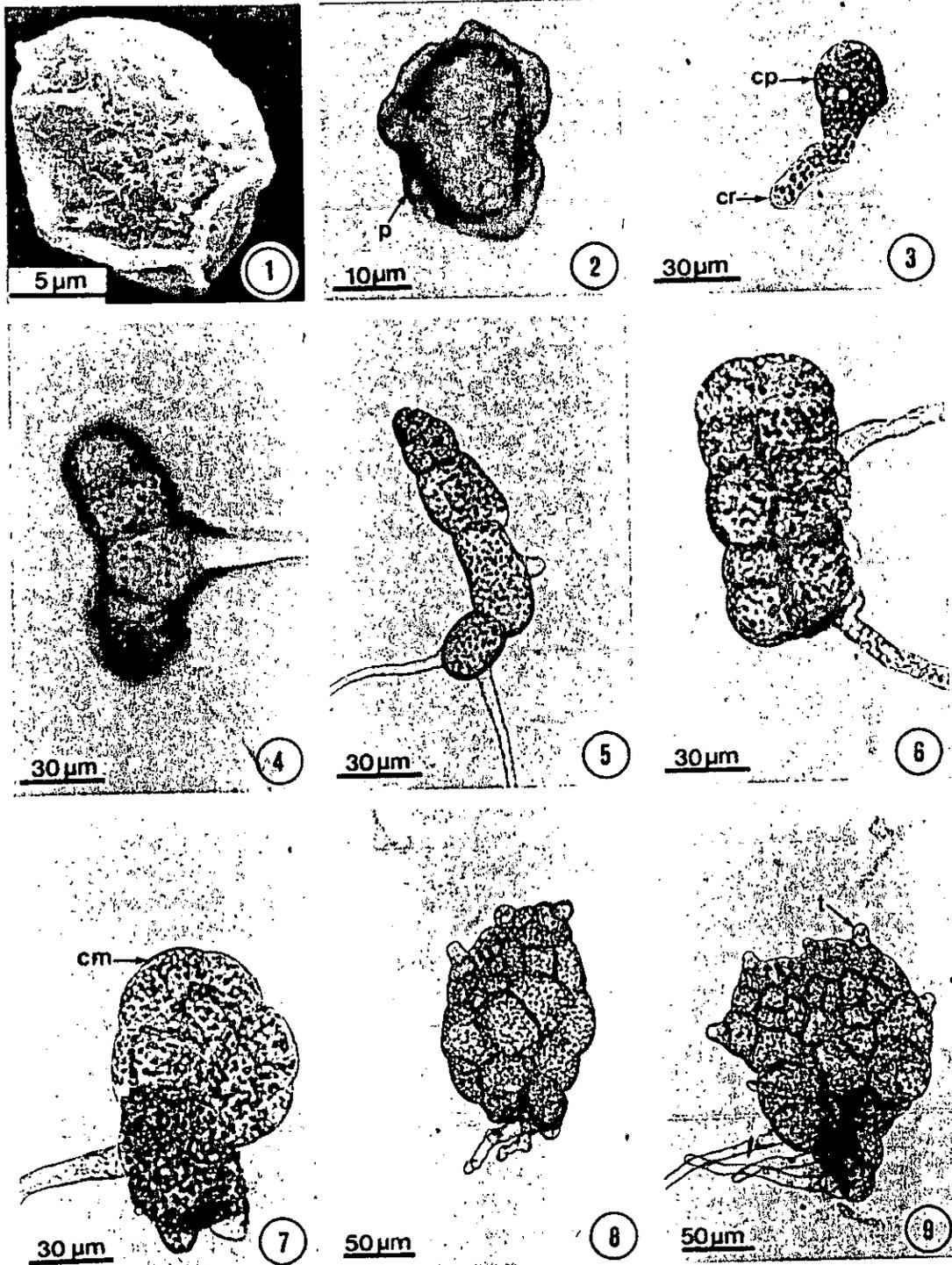
El tamaño de las espora se obtuvo con un microscopio compuesto, equipado con una reglilla micrométrica ocular. Se realizaron cincuenta medidas por cada especie. Las observaciones de las esporas, se realizó en un microscopio compuesto, así como también fueron examinadas en un microscopio electrónico de Barrido (MEB) DSM 94DA.

La fotomicrografía de la espora fue toma en un MEB, las cuales fueron deshidratadas y montadas en portamuestras, y posteriormente fueron recubiertas con un baño de oro/paladio.

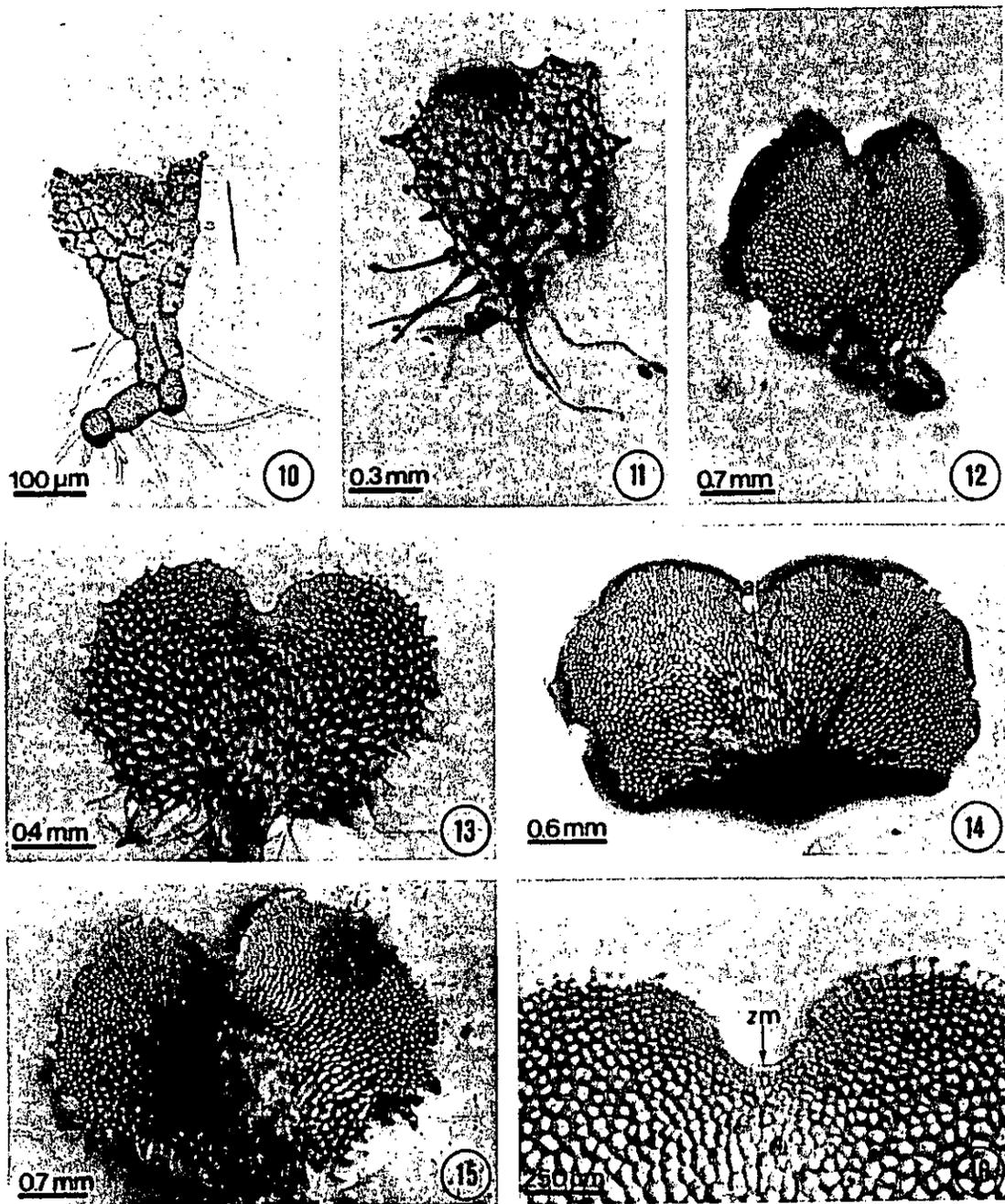
Las fotomicrografías fueron tomadas de material vivo.

RESULTADOS

Esporas: en ambas especies, las esporas son monoletes, elipsoidales, ocasionalmente esferoidales, con pliegues irregularmente ondulados, la superficie del perisporio es tuberculado a



Figs. 1-9. Fase sexual de *Stigmatopteris* spp. 1. Esporas de *S. longicaudata* (SEM, x 1500), 2. Espora de *S. contracta*, 3. Germinación de la spora de *S. longicaudata* (21 días), 4-5. Filamentos de 4-5 células de *S. contracta* (21-22 días), 6-9. Diversos estados de desarrollo de la lámina de los gametofitos de *S. longicaudata* (27-48 días). **cm**= célula meristemática, **cp**= célula protálica, **cr**= célula rizoidal, **p**= perisporio, **t**= tricoma.



Figs. 10-16. Diversas etapas de desarrollo laminar de *Stigmatopteris* spp. 10-12. *S. contracta* (42-78 días), 13-14. *S. longicaudata* (51-60 días), 15-16. Gametofito adulto y zona meristémica de *S. contracta* (78 días). **an**= anteridios, **ar**= arquegonios, **t**= tricomas, **zm**= zona meristémica.

rugoso; de color pardo oscuro; miden 27 (30) 34 x 36 (40) 44 μm (Figs. 1-2).

La germinación: se inicia alrededor de los 12 a los 20 días, posteriores a la siembra y ambas especies presentan un patrón de germinación tipo *Vittaria* (Nayar y Kaur 1971), que se caracteriza por desarrollar primero por una pared perpendicular al eje polar la célula rizoidal, que es corta, hialina y con cloroplastos (Figs. 3-4). Posteriormente se forma la célula protálica inicial que se divide por una pared horizontal formando dos células, de las cuales la célula apical se divide más tarde (18-30 días) formando un filamento germinativo corto de 2-5 células de longitud, con abundantes cloroplastos (Figs. 5).

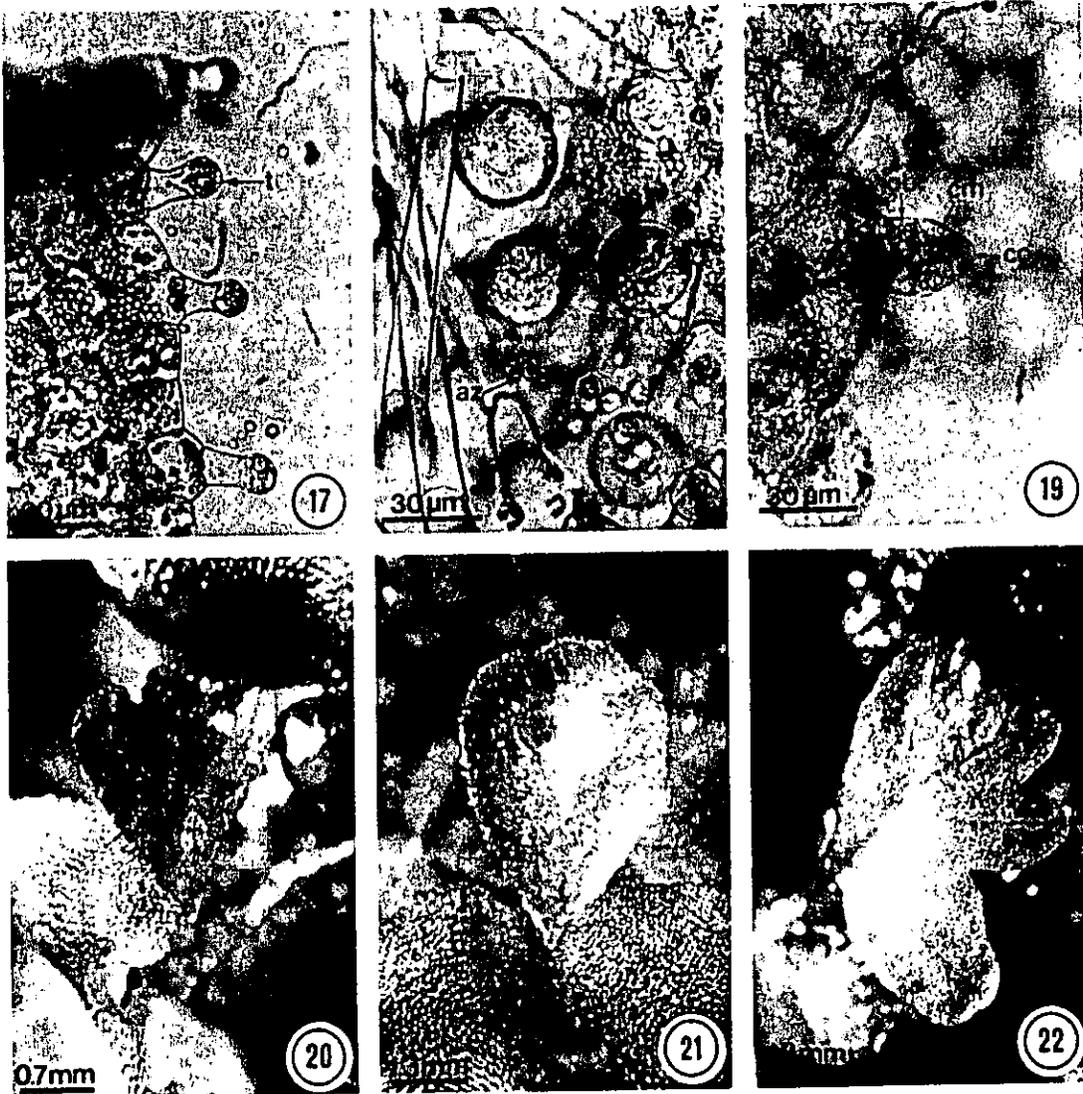
La diferenciación de la fase laminar es asincrónica en ambas especies, presentan un desarrollo protálico tipo *Aspidium* (Nayar y Kaur, 1969). La formación de la lámina se da entre 30-50 días, por divisiones longitudinales de la célula apical del filamento o bien por las células intercalares del mismo (Figs. 5-6). Posteriormente se forma una célula meristemática apical que al dividirse forma un meristemo pluricelular (Fig. 16) y a su vez una lámina espatulada (Figs. 7-9). A medida que transcurre el tiempo, los gametofitos adquieren formas espatulado-cordiformes a cordiformes (Figs. 10-13) y finalmente se forma una costilla media (cojinete) en la cual se desarrollan los gametangios, de tal forma que los gametofitos alcanzan su madurez sexual alrededor de los 100 a los 150 días. En estado maduro los gametofitos son cordiforme-reniformes, con numerosos tricomas marginales y superficiales (Figs. 14-15). Cabe destacar que en estas especies los tricomas son unicelulares, con el ápice redondeado, miden en promedio de 30 a 38 μm de largo, con una delgada capa de secreción extracelular de 1-2 μm de grosor (Figs. 7-9 y 17) y se forman después de que los gametofitos han adquirido la forma laminar.

Una vez que los gametofitos han alcanzado la madurez sexual, entre los 90 y los 150 días, se inicia la diferenciación y la formación de los gametangios, de los cuales los arquegonios son los primeros en formarse.

Los arquegonios se forman en ambas especies a partir de los 90 días, y se caracterizan porque los cuellos presentan cuatro hileras de 4 a 6 células de longitud y están orientados hacia la región basal del gametofito. Son muy similares a los de las especies de otros géneros de la familia Dryopteridaceae.

Los anteridios inician su diferenciación a partir de los 120 días, estos son globosos a elipsoidales,

están formados por una células basal, una media y una célula opercular que puede o no desprenderse en el momento de la liberación de los anterozoides (Figs. 18-19).



Figs. 17-22. Tricomos, gametangios y esporofitos de *Stigmatopteris* spp. 17-19. Tricomos y anteridios de *S. contracta* (180 días), 21. Primera hoja del esporofito de *S. contracta* (300 días), 20 y 22. Primeras hojas del esporofito de *S. longicaudata* (262 días). az = anterozoide, cb = célula basal, cm = célula media, co = célula opercular, t = tricomas.

Esporofitos: Una vez fecundada la oosfera, las primeras hojas del esporofito se desarrollan a partir de los 250 días, estas son de forma espatulada, bilobadas o trilobadas, con el margen apical redondeado y conforme pasa el tiempo y la plántula se desarrolla, la lámina de la hoja adquiere una forma pinnada (Figs. 20-22).

CONCLUSIÓN

Stigmatopteris longicaudata y *S. contracta* presentan esporas monoletes, patrón de germinación tipo *Vittaria* y desarrollo protálico tipo *Adiantum*. las diferencias encontradas, son tiempo de germinación de las esporas, y la formación de las distintas fases de los gametofitos. *S. contracta* alcanza más pronto la madurez sexual alrededor de los 100 días, y las primeras hojas se forman entre los 150-200 días; mientras que *S. longicaudata* alcanza la etapa adulta después de los 150 días y la formación de los esporofitos se inicia entre los 250 y los 300 días. Cabe destacar que aunque los esporofitos de esta última especie se forman después, se desarrollan más rápido que en *S. contracta*. Se concluye que todas las características encontradas en ambas especies estudiadas las comparten en su totalidad. Sin embargo es conveniente estudiar al grupo de manera integral para corroborar estas conclusiones.

BIBLIOGRAFÍA

- Klekowski, E. J., Jr. 1969. Reproductive biology of the Pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. *J. Linn. Soc. Bot.* 62: 361-377.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999a. Morfología y anatomía del gametofito de *Didymochlaena truncatula* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* 47: 87-93.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999b. Morfogénesis de la fase sexual del helecho *Arachniodes denticulata* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* 47: 791-797.
- Moran, R. C. 1995. Dryopteridaceae. In: R. C. Moran y R. Riba (Eds.), *Flora Mesoamericana*. Vol. 1 (pp. 210-226). Instituto de Biología, UNAM, México.
- Nayar, B. K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* 19: 179-188.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Bot. Rev.* 37: 295-396.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

A continuación se presenta un análisis comparativo de la morfogénesis de la fase sexual obtenida para los siguiente taxa: *Arachniodes denticulata*, *Didymochlaena truncatula*, *Olfersia alata*, *O. cervina*, *Phanerophlebia auriculata*, *P. gastonyi*, *P. juglandifolia*, *P. macrosora*, *P. nobilis* var. *nobilis*, *P. nobilis* var. *remotispora*, *P. pumila*, *P. umbonata*, *Stigmatopteris contracta* y *S. longicaudata*. Tanto a nivel de género como a nivel de familia, incorporando a la información generada en el presente proyecto, la obtenida por otros autores para las especies de la familia Dryopteridaceae en general.

a) Análisis a nivel género.

Arachniodes denticulata presenta esporas monoletes, elipsoidales, con perina, superficie rugosa a ondulada, con pliegues irregulares, de color pardo claro a pardo oscuro; el patrón de germinación es de tipo *Vittaria* el cual se caracteriza por desarrollar primero el rizoide, que se forma por una pared perpendicular al eje polar de la espora; posteriormente la célula protálica inicial se divide por una pared transversal dando origen a dos células, la célula apical se divide paralelamente formando un filamento corto de 2-4 células de longitud. El desarrollo protálico es de tipo *Aspidium*, el cual se caracteriza porque el filamento germinal termina comúnmente en un tricoma y la lámina protálica se forma a partir de las células intercalares del filamento, estos resultados obtenidos son muy similares a los obtenidos por Chandra y Nayar (1970) quienes describieron la morfogénesis de *Arachniodes assamica* (Kuhn) Ching y *A. aristata* (G. Forst.) Tindale, ambas especies de Asia. El rasgo distintivo de estas tres especies es que el filamento germinal termina comúnmente en un tricoma unicelular y la lámina protálica se forma principalmente por la división de las células intercalares del filamento (Tabla D2).

Didymochlaena es un género monotípico para el cual Stokey y Atkinson (1954) ya habían descrito la morfología de los gametofitos bajo el nombre de *Didymochlaena sinuata* Desv. [= *D. truncatula* (Sw.) J. Sm.]. Sin embargo es importante resaltar que el trabajo fue realizado con esporas obtenidas de plantas procedentes del Jardín Botánico de Bruselas, sin contar con ejemplares de respaldo, por lo que se desconoce su procedencia silvestre, y no hay la seguridad de que se trate de la especie en estudio.

Los resultados aquí obtenidos concuerdan con los ya descritos por las autoras mencionadas en lo siguiente: las esporas son monoletes, con perina ondulada, de color pardo y miden en promedio 37 μm de largo por 30 μm de ancho, el patrón de germinación es de tipo *Vittaria* y el desarrollo protálico de tipo *Adiantum*, los gametofitos adultos son glabros y varían de cordiforme-espátulados a cordiforme-reniformes, los anteridios tienen una célula basal, una célula media y una célula opercular que rodean a la célula andrógena, la liberación de los anterozoides es a través de un poro que se forma en la pared expuesta de la célula opercular, los cuellos de los arquegonios están formados por cuatro hileras de células, cada hilera con 4 a 5 células.

La diferencia que encontramos, entre las observaciones hechas por Stokey y Atkinson (1954) y las obtenidas en el presente estudio, es que dichas autoras mencionaron haber observado rizoides con cloroplastos (los que se pierden después), sobre todo en el margen de la lámina de los gametofitos adultos. Sin embargo, en los gametofitos cultivados en el laboratorio, en ningún caso se observaron rizoides clorofílicos (Tabla D2).

Una hipótesis que se podría plantear para explicar esta diferencia es suponer que ésta variación está relacionada con el origen geográfico de las muestras estudiadas, sin embargo no hay información adicional que pueda apoyar esta idea.

Phanerophlebia, para este género no existía información previa en lo referente a la fase del gametofito y los resultados aquí obtenidos son los primeros en generarse.

Todas las especies de *Phanerophlebia* presentan esporas monoletes, elipsoidales a esferoidales, de color pardo oscuro, el patrón de germinación es de tipo *Vittaria* y el desarrollo protálico es de tipo *Aspidium*. Así mismo el desarrollo de tricomas unicelulares en etapas filamentosas es característico de este grupo de plantas, así como gametofitos con márgenes variablemente lacerados.

Sin embargo, encontramos que a nivel de especie hay diferencias en el tamaño de las esporas, en el tiempo de germinación de las mismas, en el desarrollo de las distintas fases del gametofito, en el tiempo de formación de los tricomas y de los gametangios, así como en el tiempo de desarrollo de las primeras hojas del esporofito (Tabla D2).

Es importante mencionar que de las ocho especies que conforman al género, *Phanerophlebia haitiensis* quedó excluida de este análisis ya que por su distribución, fuera de México, fue imposible conseguir las esporas para procesarlas. Sin embargo sería interesante hacer el seguimiento de la fase gametofítica de esta especie a fin de poder compararla con las del resto del grupo.

Olfersia, este género conformado por dos especies, una de ellas endémica de Cuba. Aunque dentro de los objetivos planteados se tenía considerado únicamente el estudio de *O. cervina* (que crece en México), se tuvo la oportunidad de contar con esporas de la especie cubana (*O. alata*); las características compartidas por ambas especies son el patrón de germinación de tipo *Vittaria* y el desarrollo protálico de tipo *Aspidium*.

Al igual que en el caso de las especies de los géneros descritos anteriormente, se presentan diferencias en cuanto al tiempo de germinación de las esporas (*O. cervina*, 8-12 días y *O. alata*, 20-22 días) y la formación del gametofito adulto (*O. cervina*, 60-80 días y *O. alata*, 90-100 días). Aunque la diferencia más notable entre ambas taxa se da en la morfología de las esporas, mientras que las de *O. alata* miden en promedio 63 μm de largo por 52 μm de ancho considerando la perina alada; las de *O. cervina* miden en promedio 45 μm de largo por 37 μm de ancho en promedio. Aparentemente las esporas de *O. alata* son mucho más grandes, pero si se mide la espora sin considerar la perina, éstas miden en promedio 46 μm de largo por 35 μm de ancho y la perina mide en promedio 17 μm de ancho o más en la parte más amplia; mientras que las esporas de *O. cervina* miden en promedio 38 μm de largo por 30 μm de ancho y la perina mide en promedio 7 μm de ancho en su región más amplia; como puede observarse las esporas de *O. alata* son ligeramente más grandes que las de *O. cervina* y lo que realmente las diferencia es el espesor de la perina.

Con respecto a los tricomas, éstos difieren en el tamaño y en el grosor de la capa de secreción extracelular. En *O. alata* miden en promedio 36 μm de largo por 23 μm de ancho y presentan la cubierta de secreción extracelular gruesa, de 11 μm en promedio, mientras que los tricomas de *O. cervina* son ligeramente más cortos, miden en promedio 34 μm de largo por 20 μm de ancho y la cubierta de secreción extracelular es más delgada la cual mide 8 μm en promedio (Tabla D2).

Stigmatopteris, para este género sólo se estudiaron dos especies, *Stigmatopteris contracta* y *S. longicaudata*, en ambos taxa se observaron esporas monoletes, un patrón de germinación tipo *Vittaria* y un desarrollo protálico tipo *Aspidium*, gametofitos cordiformes-espatulados a cordiformes - reniformes, con abundantes tricomas; las diferencias encontradas entre ambos taxa son el tiempo de germinación de las esporas y la formación de las distintas fases de los gametofitos. La madurez sexual en *Stigmatopteris contracta* se presentó alrededor de los 100 días y las primeras hojas esporofíticas se formaron entre los 150 y los 200 días, mientras que *S. longicaudata* alcanza la etapa adulta después de los 150 días y la formación de los primeros esporofitos se inicia entre los 250 y los 300 días; cabe

señalar que aunque los esporofitos de esta última especie se forman después, se desarrollan más rápido que los de *S. contracta* (Tabla D2).

b) Análisis comparativo a nivel de familia.

Existe una gran variedad de formas en el desarrollo de los gametofitos y frecuentemente éstas se repiten de manera tan consistente entre las especies que constituye un carácter importante en el reconocimiento de un grupo determinado de plantas.

Realizando un análisis comparativo entre todas las especies aquí estudiadas, encontramos que comparten las siguientes características: a) todos los taxa tienen esporas monoletes, elipsoidales y con un perisporio; b) presentan un patrón de germinación del tipo *Vittaria*, que se caracteriza por la primera división perpendicular al eje polar de la spora y forma las primeras células rizoidal y protálica, y por la segunda división perpendicular a la primera división el cual produce un filamento inicial; c) sus filamentos germinativos tienen de 2 a 6 células de longitud; d) los gametangios son muy similares en cuanto al número de células que presentan, los arquegonios en todas las especies presentan 4 hileras de células, cada hilera con 4 a 6 células de largo; mientras que los anteridios, presentan 3 células, salvo el caso de *Phanerophlebia pumila* que raras veces presenta anteridios con 4 células (2 basales, una media y una célula opercular) lo cual nos es una diferencia muy notable.

Con respecto al desarrollo protálico se observó que *Arachniodes denticulata*, *Olfersia alata*, *O. cervina*, *Phanerophlebia auriculata*, *P. gastonyi*, *P. juglandifolia*, *P. macrosora*, *P. nobilis var. nobilis*, *P. nobilis var. remotispora*, *P. pumila*, *P. umbonata*, *Stigmatopteris contracta* y *S. longicaudata* presentan el desarrollo tipo *Aspidium*, que se caracteriza porque la lámina inicia su formación a partir de la división de las células intercalares del filamento, además de que la mayoría de los filamentos desarrollan un tricoma apical antes de que se inicie la formación del gametofito laminar, y en su etapa adulta los gametofitos son cordiforme-espátulados a cordiforme-reniformes con numerosos tricomas unicelulares marginales y superficiales.

Por su parte *Didymochlaena truncatula* se diferencia del grupo anterior porque es la única especie que presenta un desarrollo protálico de tipo *Adiantum*, que se caracteriza por la formación de una célula meristemática apical a partir de la cual se forma un meristemo pluricelular que va a dar lugar a la lámina protálica. Además que se distingue por la ausencia de tricomas en todas las fases de

desarrollo de sus gametofitos, en su forma adulta son cordiforme-espátulados a cordiforme-reniformes.

Otra diferencia entre todos los taxa, por un lado es la ausencia de tricomas en *D. truncatula* ya mencionado anteriormente, y en el resto de las especies es la variación en cuanto al tamaño de los tricomas y grosor de la capa de secreción de estos en las demás especies, así como el contorno del margen de los gametofitos, lo cual de primera instancia permite hacer una separación en cuatro grupos que se describen a continuación.

Grupo I. *Didymochlaena truncatula* se diferencia del resto de los taxa estudiados, por presentar el desarrollo protálico tipo *Adiantum*, y por sus gametofitos completamente glabros en toda su fase de desarrollo, además de presentar márgenes lisos (Figs. D1-D2).

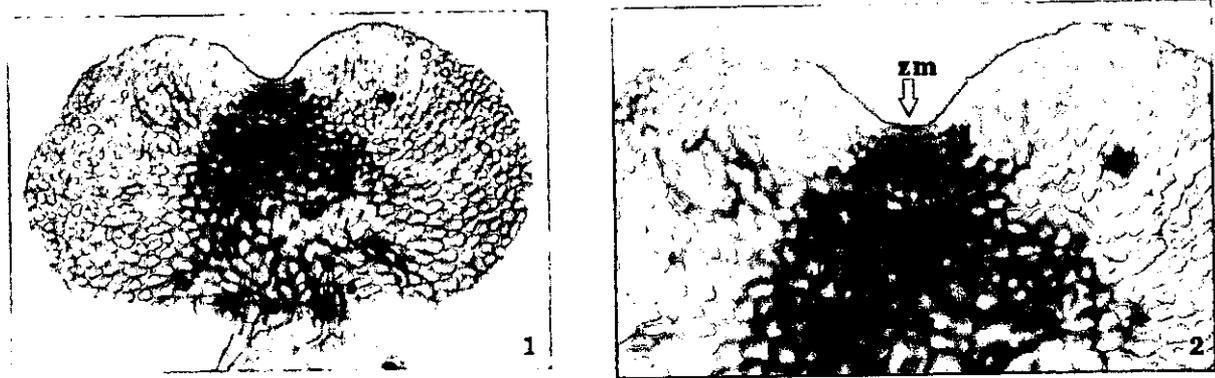


Fig. D1. Gametofito completo desnudo de *D. truncatula*. Fig. D2. Acercamiento de la zona meristemática y del margen sin tricomas. zm = zona meristemática.

Grupo II. En este grupo quedan incluidas las especies *Arachniodes denticulata*, *Phanerophlebia auriculata*, *P. gastonyi*, *P. juglandifolia*, *P. macrosora*, *P. nobilis* var. *nobilis*, *P. nobilis* var. *remotispora*, *P. pumila* y *P. umbonata*. Todos los taxa presentan gametofitos con tricomas unicelulares los cuales son más largos que anchos (miden en promedio $32 \mu\text{m}$ de largo por $17 \mu\text{m}$ de ancho en la base), capitados con una delgada capa de secreción extracelular de 1 a $2 \mu\text{m}$ de grosor y con márgenes muy lacerados, lo que hace que difieran notablemente de las especies consideradas en los grupos III y IV (Figs. D3-D4).

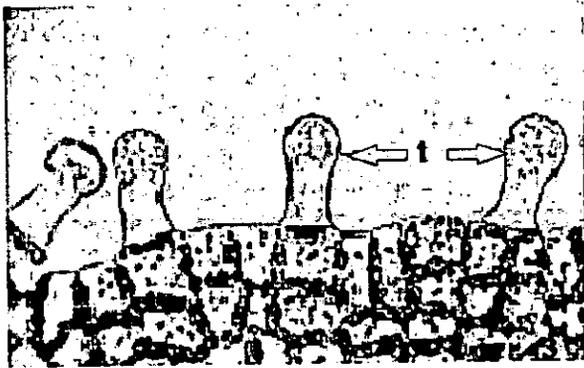


Fig. D3. Tricomos unicelulares de *Arachniodes denticulata*, Fig. D4. Tricomos unicelulares de *Phanerophlebia*.
t=tricomos.

Grupo III. Constituido por *Olfersia alata* y *O. cervina* cuyos tricomas son unicelulares, capitados y secretores; miden en promedio $35 \mu\text{m}$ largo por $22 \mu\text{m}$ ancho en la base, el tercio apical del tricoma es globoso y mide $19 \mu\text{m}$ de alto por $25 \mu\text{m}$ de ancho, con una cubierta de secreción extracelular de $9 \mu\text{m}$ de grosor en promedio; los tricomas tienen una base o pie corto, casi tan largo como ancho ($22 \mu\text{m}$ de largo por $18 \mu\text{m}$ de ancho) en comparación al tamaño total del tricoma. Por la forma de los tricomas, que son cortos y más anchos en la base, capitados, con el ápice globoso, con una capa de secreción extracelular amarillenta densa y viscosa y los márgenes de los gametofitos son enteros, a diferencia de los incluidos en los grupos II y IV (Figs. D5-D6).

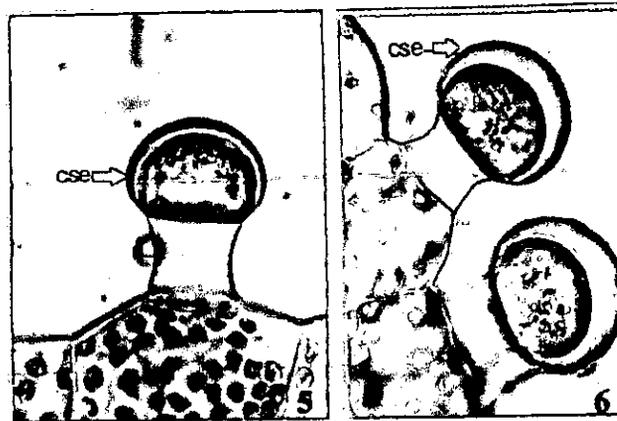


Fig. D5. Tricoma unicelular de *O. cervina*, Fig. D6. Tricomos unicelulares de *O. alata*. Ambos con una capa amarillenta de secreción extracelular. cse= cubierta de secreción extracelular

Grupo IV. Este último grupo lo forman *Stigmatopteris contracta* y *S. longicaudata*, que se diferencian de los dos grupos anteriores, por sus tricomas, los cuales a pesar de ser unicelulares y medir en promedio $38\ \mu\text{m}$ de largo, $21\ \mu\text{m}$ de ancho en la base, son más anchos que los encontrados en las especies del grupo II pero más angostos que los del grupo III; con una capa de secreción extracelular de 4 a $5\ \mu\text{m}$ de grosor y con los márgenes del gametofito ligeramente lacerados (Figs. D7-D8).

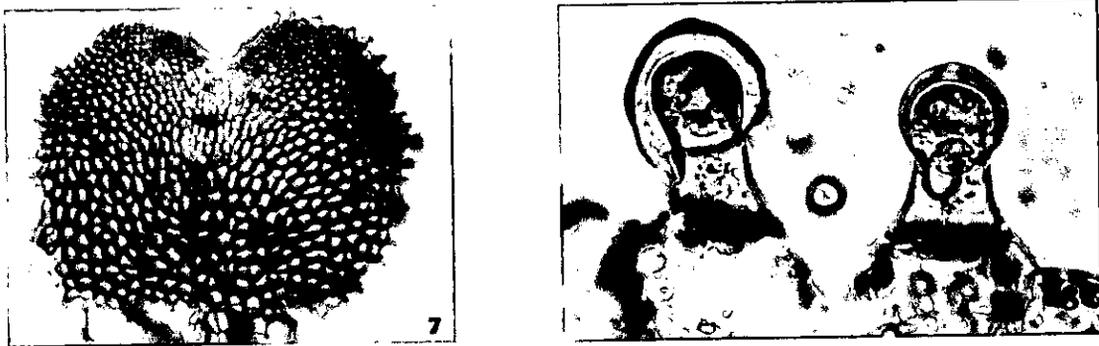


Fig. D7. Gametofito con tricomas de *S. longicaudata*. Fig. D8 tricomas unicelulares de *S. contracta*.

De acuerdo con las observaciones hechas en este estudio, con referencia a la morfología de los gametofitos del género *Didymochlaena* que son totalmente glabros (carácter morfológico primitivo), y con un desarrollo tipo *Adiantum* (carácter morfológico primitivo) indican que estos caracteres separan de manera natural a *Didymochlaena* del resto de los grupos en estudio, estas observaciones viene a reforzar la sugerencia hecha por Ching (1940) quien consideró a *Didymochlaena* como un género ubicado dentro de la familia Didymochlaenaceae quedando excluido de las Dryopteridaceae.

Por otra parte los grupos II, III y IV se separan del grupo I por presentar un desarrollo protálico tipo *Aspidium* (carácter morfológico avanzado), el cual se caracteriza porque la mayoría de sus filamentos germinativos forman un tricoma apical y la lámina protálica se desarrolla por la división de las células intercalares del filamento (carácter morfológico avanzado). La separación entre estos tres grupos, se basa principalmente en las características morfológicas de sus tricomas, así como por los márgenes lisos a lacerados de los gametofitos.

Cabe resaltar que si bien los tricomas de todas estas especies estudiadas son unicelulares, existe entre ellos un grado de diferenciación, que a nivel de gametofitos, permite delimitar grupos a nivel de género tal como se muestra en la Tabla D1.

Tabla D1. Cuadro comparativo para delimitar grupos a nivel de género.

Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
<i>Didymochlaena</i>	<i>Arachniodes</i> y <i>Phanerophlebia</i>	<i>Olfersia</i>	<i>Stigmatopteris</i>
desarrollo protálico tipo <i>Adiantum</i>	desarrollo protálico tipo <i>Aspidium</i>	desarrollo protálico tipo <i>Aspidium</i>	desarrollo protálico tipo <i>Aspidium</i>
gametofitos glabros	gametofitos con tricomas unicelulares, que miden 32 μm de largo por 17 μm de ancho en la base, capa de secreción extracelular de 1 a 2 μm de grosor en promedio	gametofitos con tricomas unicelulares, que miden 35 μm largo por 22 μm ancho en la base, capa de secreción extracelular de 8 a 11 μm de grosor en promedio	gametofitos con tricomas unicelulares, que miden 38 μm de largo por 21 μm de ancho en la base, capa de secreción extracelular de 4 a 5 μm de grosor en promedio
gametofitos con márgenes lisos	gametofitos con márgenes muy lacerados	gametofitos con márgenes lisos a lacerados	gametofitos con márgenes ligeramente lacerados

Como resultado de las observaciones hechas anteriormente se propone la siguiente clave para identificar los gametofitos adultos de los géneros en estudio.

1. Gametofitos sin tricomas durante todo su desarrollo *Didymochlaena*
1. Gametofitos con tricomas unicelulares, al menos en alguna fase de su desarrollo.
 2. Gametofitos con márgenes lacerados; tricomas unicelulares capitados, más largos que anchos; de 32 μm de largo por 17 μm de ancho en la base, con una delgada capa de secreción extracelular de 1 a 2 μm de grosor *Arachniodes* /*Phanerophlebia*
 2. Gametofitos con márgenes lisos a ligeramente lacerados, cubierta de secreción extracelular más de 4 μm de grosor.
 3. Gametofitos con márgenes ligeramente lacerados, tricomas unicelulares secretores, de 38 μm de largo y 21 μm de ancho en la base (promedio), con una capa de secreción extracelular de 4 a 5 μm de grosor *Stigmatopteris*
 3. Gametofitos con márgenes lisos, tricomas unicelulares capitados y secretores, de 35 μm largo por 22 μm ancho en la base, el tercio apical globoso 19 μm de alto por 25 μm de ancho, con una cubierta de secreción extracelular de 9 μm de grosor en promedio *Olfersia*

A manera de conclusión puede decirse que este estudio muestra que las características de los gametofitos pueden apoyar frecuentemente las evidencias obtenidas a partir del esporofito, pero también pueden sugerir en dirección opuesta. Un ejemplo de esto se presenta en el género *Didymochlaena*, en donde las características del talo gametofito no coinciden con las que presentan los demás géneros incluidos en este estudio, lo que confirma las observaciones hechas por Atkinson y Stokey (1964).

Ahora bien, para conocer las bondades completas de los gametofitos y su utilidad como caracter taxonómico, éstos deben ser observados durante todo el desarrollo y aunque la morfología comparativa de los mismos no puede ser el factor concluyente en la sistemática de los helechos, ha probado sin embargo ser de considerable apoyo, particularmente en lo que respecta a los géneros cuya posición se encuentra aun en discusión.

Para ello se requiere de un estudio muy cuidadoso de los gametofitos, con el fin de precisar la existencia de estructuras bien definidas que aun en condiciones distintas de cultivo no varíen, y que finalmente puedan ser de gran utilidad junto con las características del esporofito a los taxónomos en la elaboración de comparaciones filéticas.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

TABLA D2. Comparación de diversas fases de desarrollo de los gametofitos de especies de algunos géneros de la familia Dryopteridaceae.

Taxa	Caracteres	Tipo de espora	Germinación	Fase filamentosa	Fase laminar	Tricomas
<i>Arachniodes denticulata</i>		Monoletes, elipsoidales, perina con superficie rugosa o tuberculada, de color pardo obscuro, miden (32) 37 (40) x (25) 27 (30) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 8-12 días, rizoide dos veces mas largo que la espora, son hialinos; la célula protálica inicial con un glóbulo de aceite	12-18 días, filamentos germinativos cortos de 2-3 células, con un tricoma apical capitado unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 18-50 días, la lámina se forma a partir de divisiones de las células intercalares del filamento germinativo	18 días, son unicelulares capitados con el ápice redondeado, miden 38 μm de longitud, con una capa de secreción extracelular de 2 μm de grosor
<i>Didymochlaena truncatula</i>		Monoletes, superficie rugosa, perina, con prominentes pliegues, de color pardo claro, 37 x 30 μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 5-8 días, rizoide dos veces mas largo que la célula protálica que tiene glóbulos de aceite	8-12 días, filamentos germinativos cortos de 2-3 células de longitud, sin tricomas	Tipo <i>Adiantum</i> , 28-35 días, la lámina se forma a partir de una célula meristemática apical del filamento germinativo	No hay formación de tricomas durante todo el ciclo sexual
<i>Olfersia alata</i>		Monoletes, esferoidales, con una amplia perina plegada de color pardo claro, miden (64) 73 (83) x (49) 53 (55) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 20-23 días, rizoide hialino, corto casi del mismo tamaño que la primera célula protálica	23-25 días, filamentos germinativos cortos de 2-4 células, con un tricoma apical unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 30-60 días, la lámina protálica se forma a partir de las células intercalares del filamento germinativo	25 días, son unicelulares, capitados y secretores, miden en promedio 36 μm de longitud, con una capa de secreción extracelular de 3 μm de grosor
<i>O. cervina</i>		Monoletes, esferoidales, perina amplia, con superficie ondulada, color pardo oscuro, miden (44) 48 (51) x (37) 39 (40) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 10-12 días, Rizoide corto, del mismo tamaño que la primera célula protálica, esta última con una gota de aceite	15-20 días, filamentos germinativos cortos de 2-5 células de longitud, con un tricoma apical capitado unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 20-60 días, la lámina protálica se forma a partir de las células intercalares del filamento germinativo	15 días, son unicelulares, capitados con ápices globosos, miden 34 μm de longitud, con una capa de secreción extracelular de 8 μm de grosor
<i>Phanerophlebia auriculata</i>		Monoletes, perina con pliegues ondulados, de color pardo claro, miden (35) 34 (44) x (27) 30 (31) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 10-12 días, rizoide dos veces mas largos que la primera célula protálica	12-21 días, filamentos germinativos cortos de 2-3 células, el rizoide dos veces más largo que el filamento	Tipo <i>Aspidium</i> , 21-68 días, la lámina protálica se forma a partir de una célula meristemática y por células intercalares del filamento germinativo	21 días, son unicelulares, capitados de 25 μm de longitud con una capa de secreción extracelular de 1 μm de grosor
<i>P. gastonyi</i>		Monoletes, perina con pliegues ondulado, de color pardo claro, miden (46) 52 (54) x (34) 40 (44) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 9-10 días, rizoide hialinos, mas largos que la primera célula protálica	10-15 días, filamento germinativos de 2-4 células de longitud con un tricoma apical unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 20-66 días, la lámina protálica se forma a partir de las células intercalares del filamento germinativo	15 días, son unicelulares, capitados de 43 μm de longitud, con una capa de secreción extracelular de 3 μm de grosor
<i>P. juglandifolia</i>		Monoletes, perina con pliegues ondulados, de color pardo oscuro, miden (44) 49 (54) x (34) 36 (39) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 10-14 días, rizoide hialinos, ligeramente mas largos que la primera célula protálica	14-21 días, filamentos de 2-4 células de longitud, con un tricoma apical unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 21-56 días, la lámina protálica se forma a partir de las células intercalares del filamento germinativo	14-20 días, son unicelulares capitados, con el ápice redondeado, miden 30 μm de longitud, con una capa de secreción extracelular de 2 μm de grosor

<i>P. macrosora</i>	Monoletes, perina con pliegues ondulados, de color pardo oscuro, miden (47) 50 (56) x (31) 35 (39) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 7-10 días, rizoides hialinos, dos veces mas largos que la primera célula protálica	10-20 días, filamentos de 2-6 células protálicas de longitud con un tricoma apical unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 20-30 días, la lámina protálica se forma a partir de 35 μm de longitud, con una capa de secreción extracelular de 2 μm de grosor
<i>P. nobilis</i> var. <i>nobilis</i>	Monoletes, perina con pliegues ondulados, color pardo oscuro, miden (36) 40 (44) x (26) 30 (34) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 6-9 días, rizoide hialinos 2-3 veces mas largos que la primera célula protálica	12-18 días, filamento de 2-5 células, de longitud, con uno a dos rizoides hialinos, algunos filamentos tienen un tricoma apical unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 18-50 días, la lámina protálica se forma a partir de las células intercalares y/o por una célula meristemática apical
<i>P. nobilis</i> var. <i>remotispora</i>	Monoletes, perina con pliegues ondulados, de color pardo claro, miden (34) 36 (41) x (24) 26 (29) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 8-12 días, con la célula rizoidal 3 veces mas larga que la primera célula protálica	12-18 días, filamento alargado de 2-5 células de longitud, con 1-3 rizoides largos, a veces con un tricoma apical unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 18-50 días, la lámina protálica se forma a partir de las células intercalares y/o por una célula meristemática apical
<i>P. pumila</i>	Monoletes, perina con pliegues ondulados, color pardo oscuro, miden (47) 50 (54) x (34) 38 (44) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 12 días, rizoide hialino, tres veces mas largo que la primera célula protálica	24 días, Filamento de 2-6 células de longitud, rizoides del mismo tamaño que el filamento, con un tricoma apical unicelular	Tipo <i>Aspidium</i> , 25-50 días, la lámina protálica se forma a partir de las células intercalares del filamento
<i>P. umbonata</i>	Monoletes, perina con pliegues ondulados, de color pardo oscuro, miden (34) 37 (41) x (24) 27 (31) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 8-10 días, rizoide hialinos, dos veces mas largo que la primera célula protálica	12-18 días, filamento de 2-5 células de longitud con uno a dos rizoides hialinos largos	Tipo <i>Aspidium</i> , 18-40 días, la lámina protálica se forma a partir de la división de una célula meristemática apical
<i>Stigmatopteris contracta</i>	Monoletes, perina con pliegues ondulados, de color pardo claro, miden (36) 40 (44) x (27) 30 (34) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 15-20 días, rizoide hialino, dos veces mas largo que la primera célula protálica	20-25 días, filamentos germinativos cortos de 2-3 células de longitud	Tipo <i>Aspidium</i> , 30-40 días, la lámina se forma a partir de una célula meristemática apical
<i>S. longicaudata</i>	Monoletes, perina con pliegues ondulados, de color pardo claro, miden (36) 40 (44) X (27) 30 (34) μm	Tipo <i>Vittaria</i> , 12-18 días, rizoide hialino, dos veces mas largos que la primera célula protálica	18-25 días, filamentos germinativos cortos de 2-4 células de longitud	Tipo <i>Aspidium</i> , 25-30 días, la lámina se forma a partir de una célula meristemática apical

TABLA D2 (Continuación).

Nota: Las fechas de los días, hacen referencia a el tiempo de formación y diferenciación de cada fase del desarrollo protálico de cada especie.

Taxa	Caracteres	Fase adulta	Arquegonios (♀) y Anteridios (♂)	Esporofito
<i>Arachniodes denticulata</i>	50-100 días, gametofitos adultos espatulados a cordiformes, margenes lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales		♀ los cuellos tienen cuatro hileras de células, se forman alrededor de 74-110 días ♂ con tres células: basal, media y opercular, se forman alrededor de 100-130 días	Después de 400 días de siembra, en esta especie no se formaron esporofitos
<i>Didymochlaena truncatula</i>	45- 60 días, gametofitos adultos cordiforme-espatulados a cordiformes-reniformes, margenes lisos, sin tricomas		♀ Los cuellos tienen cuatro hileras de células, se forman alrededor de 45-50 días ♂ con tres células: basal, media y opercular, se forman alrededor de 45- 70 días	Las primeras hojas, son una lámina espatulada, bilobuladas, posteriormente son pinnadas y se forman alrededor de 100-120 días
<i>Olfersia alata</i>	90-100 días, gametofitos adultos cordiforme-espatulados, margenes lisos, tricomas unicelulares marginales y superficiales		♀ Los cuellos están formados por cuatro hileras de células con cuatro o cinco células cada una, se forman alrededor de 100-150 días ♂ son de forma globosa y están formados por tres células: una basal, una media y una opercular, que rodean a la célula andrógena, se forman alrededor de 100-150 días	Las primeras hojas, son una lámina simple espatulada; con tricomas marginales unicelulares, capitados, de la misma forma como los que se presentan en el gametofito, los esporofitos se forman después de los 400-450 días
<i>O. cervina</i>	60-80 días, gametofitos adultos cordiformes a reniformes, margenes lisos, tricomas unicelulares marginales y superficiales		♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 120-240 ♂ con tres células: basal, media y opercular, se forman alrededor de 78-212 días	Después de 400 días de siembra, en esta especie no se formaron esporofitos
<i>Phanerophlebia auriculata</i>	80-110 días, gametofitos adultos espatulados a cordiformes, margenes lacerados, tricomas unicelulares laterales y superficiales		♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 80-100 días ♂ con tres células: una basal, media y opercular, se forman alrededor de 90-150 días	Las primeras hojas son bilobuladas, espatuladas, con los margenes serrulados y se forman alrededor de los 150-200 días
<i>P. gastonyi</i>	90-110 días, gametofitos adultos cordiformes a reniformes, margenes lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales		♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 90-120 días. ♂ con tres células: basal, media y opercular, se forman alrededor de 90-150 días	las primeras hojas del esporofito son espatuladas, bilobuladas, con los margenes serrulados y se forman a partir de los 130-250 días
<i>P. juglandifolia</i>	87-100 días, gametofitos adultos cordiforme-espatulados con margenes lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales		♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, orientados hacia la base del protalo, se forman alrededor de 100-120 días ♂ con tres células: una basal, una media y una opercular, se forman alrededor de 100-120 días	Las primeras hojas del esporofito son bilobuladas, espatuladas, con los margenes serrulados y se forman a partir de los 130-180 días)

<i>P. macrosora</i>	50-70 días, gametofitos adultos cordiforme-espátulados a cordiforme-reniformes, márgenes lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales	♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 66 días ♂ con tres células: una basal, media y opercular, se forman alrededor de 52-100 días	Después de 250 días de siembra, en esta especie no se formaron esporofitos
<i>P. nobilis</i> var. <i>nobilis</i>	50-200 días, gametofitos adultos espátulados a cordiformes, márgenes lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales	♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 62-200 días ♂ con tres células: una basal, media y opercular, se forman alrededor de 52-100 días	Las primeras hojas de los esporofitos son bilobuladas, espátuladas, con los márgenes serrulados y se forman a partir de 160-200 días
<i>P. nobilis</i> var. <i>remotispora</i>	50-100 días, gametofitos adultos espátulados a cordiformes con márgenes lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales	♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 70-150 días ♂ con tres células: basal, media y opercular, se forman alrededor de 50-100 días	Las primeras hojas son bilobuladas, espátuladas, con los márgenes serrulados y se forman a partir de los 200-220 días
<i>P. pumila</i>	55-105 días, gametofitos adultos espátulados alargados a cordiformes, márgenes muy lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales	♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 70-150 días ♂ cuatro células: dos basales, una media y opercular, se forman alrededor de 56-100 días	Las primeras hojas son bilobuladas y espátuladas, con los márgenes serrulados y se forman a partir de los 200-260 días
<i>P. umbonata</i>	48-110 días, gametofitos cordiformes espátulados a cordiformes-reniformes, márgenes lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales	♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 80-130 días ♂ con tres células: basal, media y opercular, se forman alrededor de 100-130 días	Las primeras hojas de los esporofitos son espátuladas bilobuladas, con los márgenes serrulados y se forman a partir de los 120-150 días
<i>Stigmatopteris contracta</i>	50-110 días, gametofitos adultos cordiformes, márgenes ligeramente lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales	♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 90-120 días ♂ con tres células: basal, media y opercular, se forman alrededor de 120-150 días	Las primeras hojas son bilobuladas, espátuladas, y se forman a partir de los 250-300 días
<i>S. longicaudata</i>	100-150 días, gametofitos adultos cordiformes, márgenes ligeramente lacerados, tricomas unicelulares marginales y superficiales	♀ los cuellos están formados por cuatro hileras de células, se forman alrededor de 120-150 días ♂ con tres células: basal, media y opercular y presencia de un poro, se forman alrededor de 150-180 días	Las primeras hojas son bilobuladas, espátuladas y se forman a partir de los 200-270 días

BIBLIOGRAFÍA

- Atkinson, L. M. 1960. The Schizaeaceae: the gametophyte of *Mohria*. *Phytomorphology* 10: 351-367.
- Atkinson, L.M. 1962. The Schizaeaceae: the gametophyte of *Anemia*. *Phytomorphology* 12: 264-288.
- Atkinson, L. M. 1973. The gametophyte and family relationships. In: A. C. Jermy, J. A. Crabbe, & B. A. Thomas (Eds.), *The phylogeny and classification of the ferns*. *J. Linn. Soc., Bot.* 67 (Suppl. 1): 73-90.
- Atkinson, L. R. & A. G. Stokey. 1964. Comparative morphology of the gametophyte of homosporous ferns. *Phytomorphology* 14(1): 51-70.
- Bridson, G. D. R. & E. R. Smith. 1991. B-P-H/S. *Botanico - Periodicum - Huntianum / Supplementum*. Hunt Institute for Botanical Documentation. Carnegie Mellon University, Pittsburgh. 1068 pp.
- Britton, E. G. & A. Taylor. 1901. The life history of *Schizaea pusilla*. *Bull. Torrey Bot. Club* 28:1-19.
- Brummitt, R. K. & C. E. Powell. 1992. *Authors of Plant Names*. Royal Botanic Gardens, Kew. 732 pp.
- Chandra, P. & B. K. Nayar. 1970. Morphology of some polystichoid ferns. I. The gametophytes of *Arachniodes*, *Cyrtomium* and *Polystichum*. *J. Linn. Soc. Bot.* 63: 265-276.
- Ching, R. C. 1940. On natural classification of the 'Polypodiaceae'. *Sunyatsenia* 5: 201-268.
- Cousens, M. I. 1975. Gametophyte sex expression in some species of *Dryopteris*. *Amer. Fern J.* 60: 13-27.
- Dyer, A. F. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigations. In: A. F. Dyer (Ed.). "The Experimental Biology of Ferns", Academic Press, London, pp. 253-305.
- Gibby, M., H. Rasbach, T. Reichstein, C. J. Widén & R. L. Viane. 1992. Micromorphology, chromosome numbers and phloroglucinols of *Arachniodes foliosa* and *A. webbiana* (Dryopteridaceae, Pterophyta). *Bot. Helv.* 102: 229-245.
- Kaur, S. 1977. Morphology of the prothallus and juvenile sporophytes of some species of *Dryopteris*. *Proc. Indian Acad. Sci.* 85: 163-171.

- Klekowski, E. J. Jr. 1969. Reproductive biology of the pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 62: 361-377.
- Lawrence, G. H. M.; B. A. F. Günther, G. S. Daniels & H. Dolezal. 1968. B-P-H (Botanico-Periodicum-Huntianum). Hunt Botanical Library, Pittsburgh, Pa. pp 1-1063.
- Mendoza, A., B. Pérez-García, I. Reyes Jaramillo & M. Ricci. 1996-1997. Desarrollo del gametofito de *Pteris berteriana* (Pteridaceae: Pteridae). *Rev. Biol. Trop.* 44 (3)/44(1): 51-57.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999a. Morfología y anatomía del gametofito de *Didymochlaena truncatula* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* 47(1): 87-93.
- Mendoza, A., B. Pérez-García & R. Riba. 1999b. Morfogénesis de la fase sexual de *Arachniodes denticulata* (Dryopteridaceae). *Rev. Biol. Trop.* 47(4): 791-797.
- Mickel, J. T. & J. M. Beitel. 1988. Pteridophytes flora of Oaxaca, Mexico. *Mem. New York Bot. Gard.* 46: 1-569.
- Miller, 1968. Fern gametophytes as experimental material. *Bot. Rev. (Lancaster)* 34: 361-440.
- Momose, S. 1942. Studies on the gametophytes of ferns. *J. Jap. Bot.* 18: 49-196.
- Moran, R. C. 1986. The neotropical fern genus *Olfersia*. *Amer. Fern J.* 76(4): 161-178.
- Moran, R. C. 1987a. Monography of the neotropical fern genus *Polybotrya* (Dryopteridaceae). *Illinois Nat. Hist. Surv. Bull.* 34 (1): 1-138.
- Moran, R. C. 1987b. Sterile-fertile leaf dimorphy and evolution of soral types in *Polybotrya* (Dryopteridaceae). *Syst. Bot.* 12(4): 617-628.
- Moran, R. C. 1991. Monograph of the neotropical fern genus *Stigmatopteris*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 78(4): 857-914.
- Moran, R. C. 1995. Dryopteridaceae. In: R. C. Moran y R. Riba (Eds.), *Flora Mesoamericana*. Vol. 1 (pp. 210-226). Instituto de Biología, UNAM, México.
- Morton, C. V. 1960. Observations on cultivated ferns VI. The ferns currently known as *Rumohra*. *Amer. Fern J.* 50(1): 145-155.
- Näf, U. 1962. Developmental physiology of lower archegoniate. *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 13: 507-532.
- Nayar, B. K. & S. Kaur. 1968. Spore germination in homosporous ferns. *J. Palynol.* 4: 1-14.
- Nayar, B. K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* 19(2): 179-188.
- Nayar, B. K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Bot. Rev.* 37(2): 295-396.

- Nayar, B. K., S. Kaur & P. Chandra. 1968. The prothallus of *Polystichum*. Proc. Indian Acad. Sci. sec. 69b: 198-202.
- Nishida, M. 1965. Types of spore germination in the ferns. J. Jap. Bot. 40: 161-171.
- O'Brien, T. P., N. Feder & M. E. McCully. 1964. Poly-chromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59: 367-373.
- Pérez-García, B. 1989. Morfogénesis de gametofitos de Cyatheaceae (Pterophyta: Filicales). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Pérez-García, B. & R. Riba. 1998. Bibliografía sobre gametofitos de helechos y plantas afines (1699-1996). Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical garden 70: 1-98.
- Pérez-García, B., A. Mendoza, I. Reyes & R. Riba. 1999. Morfogénesis de la fase sexual de seis especies mexicanas de helechos del género *Dryopteris* (Dryopteridaceae). Rev. Biol. Trop. 47(1): 63-75.
- Raghavan, V. 1973. Blue light interference in the differentiation of developmental stages of the spores of *Cheilanthes farinosa*. Pl. Physiol. (Lancaster) 51: 306-311.
- Raghavan, V. 1989. Developmental biology of fern gametophytes. Cambridge University Press, Cambridge.
- Riba, R. & B. Pérez-García. 1999. Dryopteridaceae. Consejo Nacional de la Flora de México, A. C. 6(4): 1-48.
- Rogers, L. M. 1923. Development of the prothallium of *Lygodium palmatum*. Bot. Gaz. 75: 75-85.
- Rogers, L. M. 1927. Development of the archegone and studies in fertilization of *Lygodium palmatum*. La Cellule 37: 327-352.
- Sánchez-Villaverde, C., M. García Caluff & C. Zavaro Pérez. 1991. Nueva especie cubana del género *Olfersia* (Polypodiaceae-Dryopteridaceae). Fontqueria 31: 229-233.
- Stokey, A. G. & L. R. Atkinson. 1954. The gametophyte of *Didymochlaena sinuata* Desv. Phytomorphology 4: 310-315.
- Stokey, A. G. & L. R. Atkinson. 1956. The family of the Osmundaceae. Phytomorphology 6: 19-40.
- Tindale, M. D. 1961. Studies in Australian pteridophytes. New South Wales Natl. Herb., Fl. Ser. 3(2): 88-92.
- Tryon, A. F. & B. Lugardon. 1991. Spores of the Pteridophyta: surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies: i-x, pp 1-648. Springer-Verlag, New York.

- Tryon, R. M. & A. F. Tryon. 1982. Ferns and Allied Plants, with Special Reference to Tropical America. i-xii, pp 1-857. Springer-Verlag, New York.
- Underwood, L. M. 1899. American ferns-II. The genus *Phanerophlebia*. Bull. Torrey Bot. Club 26: 205-215.
- Van Cotthem, W. R. J. 1973. Stomatal types and systematic, p. 57-71. In: A.C. Jermy, J. A. Crabbe & B. A. Thomas (Eds.). The phylogeny and classification of ferns. Academic, New York.
- Voeller, B. 1971. Developmental physiology of fern gametophytes: relevance for biology. BioScience 21: 266-270.
- Weinberg, R. S. & B. R. Voeller. 1969. Induction of fern spore germination of fern spores. Amer. Fern J. 59: 153-167.
- Yatskievych, G., D. B. Stein & G. J. Gastony. 1988. Chloroplast DNA evolution and systematics of *Phanerophlebia* and related fern genera. Proc. Natl. Acad. Sci. 85(8): 2589-2593.
- Yatskievych, G. 1990. Systematics of the fern genus *Cyrtomium* in the New World. Ph.D. thesis: i-xii, 1-239, Indiana University, Bloomington.
- Yatskievych, G. 1992. Innovations in the fern genus *Phanerophlebia*. Novon 2(4): 445-446.
- Yatskievych, G. 1996. A revision of the fern genus *Phanerophlebia* (Dryopteridaceae). Ann. Missouri Bot. Gard. 83: 168-199.
- Yatskievych, G., and R. Riba. 1999. *Phanerophlebia*. pp. 26-38. In R. Riba & Pérez-García, B. Dryopteridaceae. Flora de México 6: 1-48.