

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

Aniceto Mendoza<sup>1</sup>, Blanca Pérez-García<sup>1</sup> y Ramón Riba<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biología, Área de Botánica Estructural y Sistemática, Universidad Autónoma Metropolitana, Izta-palapa. Apartado Postal 55-535, 09340 México, D. F. Fax: (92) 5 724 4688, correo electrónico: amr@xanum.uam.mx

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

**Abstract:** Spore morphology and sexual fase development of *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching are described from material collected in states 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 monolete, 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 pinada, 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 Enriquez, 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 las siglas AMR 193, AMR 252 y AMR 282 respectivamente.

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 cm<sup>2</sup>.

Las 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 20-28 °C; tres cajas se mantuvieron en la oscuridad para determinar fotoblastismo (Mendoza *et al.* 1999).

Las fotomicrografías fueron tomadas de material vivo.

#### RESULTADOS

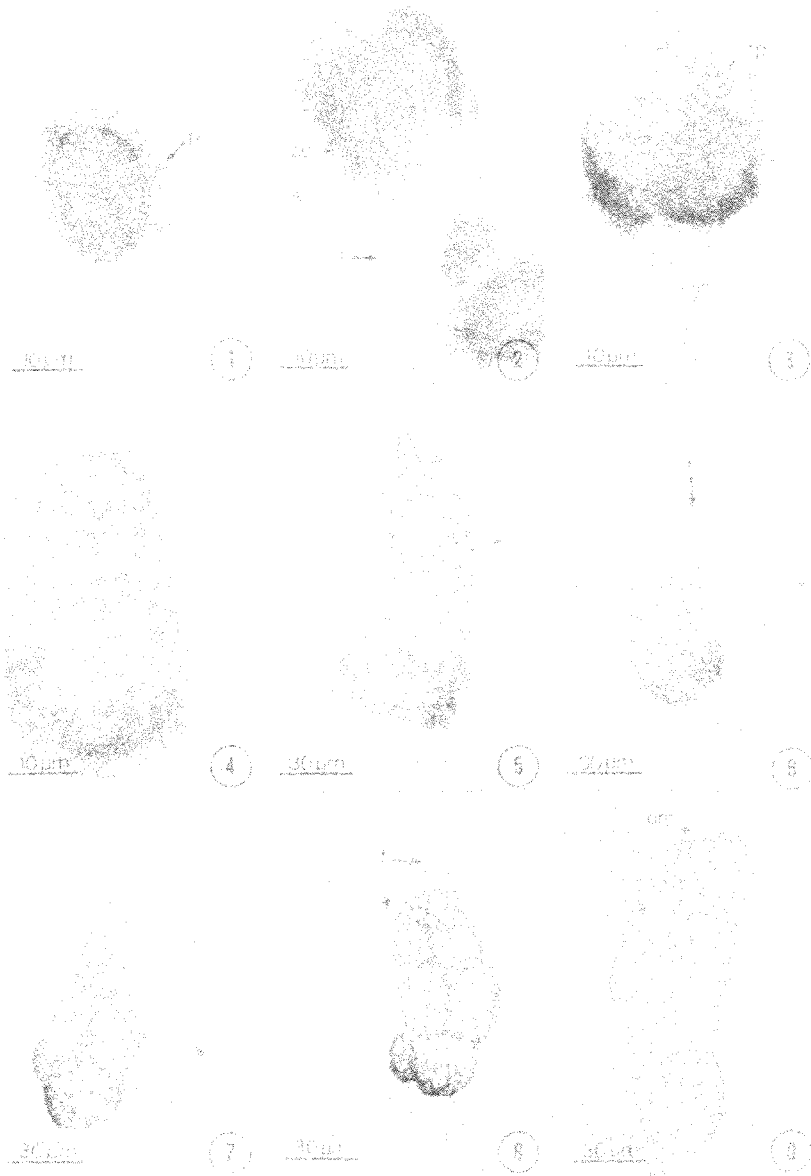
**Esporas:** de acuerdo a nuestras observaciones, las esporas son monoletes, elipsoidales, con perina y de color pardo oscuro, superficie rugosa a tuberculada, formada por pliegues que terminan en picos irregulares, miden en promedio 30 x 42 µm (Fig. 1).

**Germinación:** 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 germinación 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 ligeramente más grande que la otra; esta forma asimétrica se pierde

cuando se forma el cojinete (Fig. 9-11). Los protalos adultos son cordiformes-espátulados a cordiforme-reniforme, con abundantes trico-

mas unicelulares alargados, capitados, que se distribuyen tanto en el margen como en la superficie de la lámina (Fig.12-13).



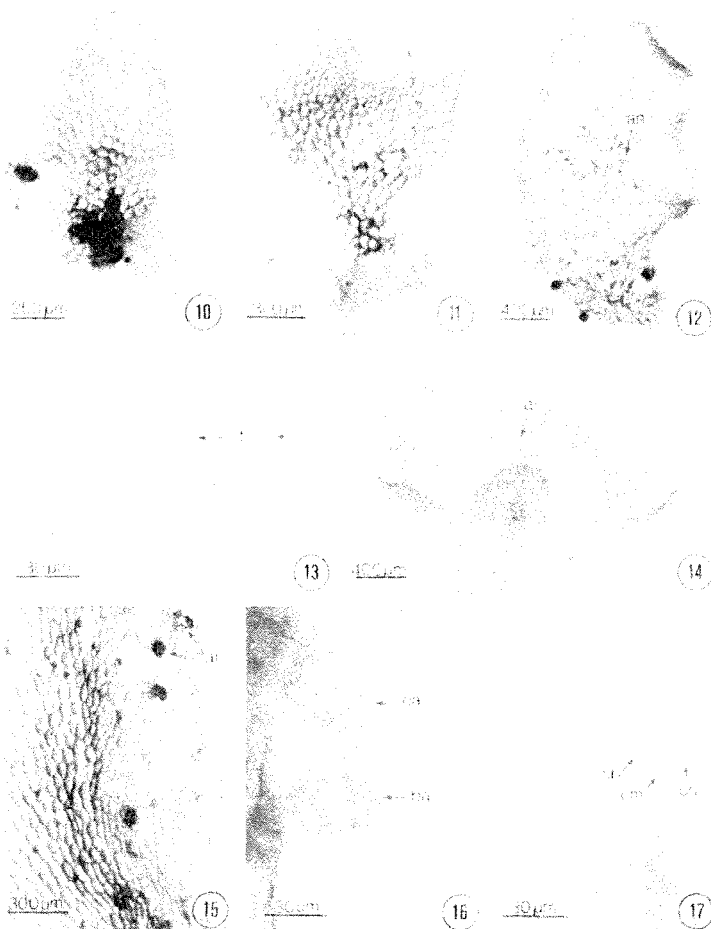
Figs. 1-9. Desarrollo protálico de *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching. 1. Espora. 2.- Germinación tipo *Vittaria*, 3-5. Fases filamentosas (2-4 células). 6-9. Formación de la lámina protálica (4-12 células). ce= cubierta de la espóra, cm= célula meristemática, cp= célula protálica, p= perina, r= rizoides, 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 plate development (4-12 cells). ce= spore coat, cm= meristematic cell, cp= prothallial cell, p= perine, r= rhizoid, t= trichomes.

**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).



Figs. 10-17. Desarrollo protálico de *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching. 10-11. Fases laminares jóvenes. 12. Gametofito adulto con anteridios. 13. Tricomias 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= tricomias capitados.

Figs. 10-17. Prothallial development of *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching. 10-11. Young plate stage. 12. Adult gametophyte with antheridia. 13. Marginal capitate 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= capitate trichomes.

## 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).

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 stages of the prothallial development of *Arachniodes denticulata* with other genera and species of *Dryopteridaceae*.

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

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

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 espora 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 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 sobre el manuscrito, así como a Jorge Lodigia-

ni por el procesamiento del material fotográfico y a los revisores externos por sus críticas. 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 habersido 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.
- 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.
- 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. 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: 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.