

Morfogénesis de la fase sexual del helecho *Lophosoria quadripinnata* var. *contracta* (Lophosoriaceae)

Aniceto Mendoza, Blanca Pérez-García e Irma Reyes Jaramillo P.

Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. Depto. de Biología, AP. 55-535 C.P. 09340 México, D.F. e-mail: bpg@xanum.uam.mx

(Recibido 24-VI-1996. Revisado 4-IV-1997. Aceptado 4-IV-1997.)

Abstract: The development and morphology of the gametophytes of the fern *L. quadripinnata* var. *contracta* are described from material collected in Robinson Crusoe Island (Juan Fernandez Archipelago, Chile). The spores were sown in Thompson medium (25 Petri dishes). Spore dormancy range was 15-20 days. germination pattern is *Cyathea*-type and the prothallial development *Adiantum*-type. The gametangia are typical of the leptosporangiate ferns. This plant is monoecious. Sporophytes appeared after three months of culture. The two varieties differ in spore size, prothallus shape and number of antheridial cells.

Key words: Chile, Gametophyte, Lophosoriaceae, *L. quadripinnata* var. *contracta*, morphogenesis, Pteridophyta, South America.

Lophosoria es el único género americano de la familia Lophosoriaceae, la conforman dos variedades: *L. quadripinnata* (Gmel.) C. Chr. var. *quadripinnata* y *L. quadripinnata* var. *contracta* (Hieron.) R. & A. Tryon. la primera tiene amplia distribución en los trópicos americanos, desde regiones húmedas y templadas de Sudamérica y crece de 1000-3000 m snm, mientras que la variedad *contracta* crece solamente en Ecuador (2900 m snm) y en la Isla Robinson Crusoe (Archipiélago Juan Fernández, Chile).

La información clásica acerca de los gametofitos de las ciateáceas (anteriormente el género *Lophosoria* se consideraba dentro de esta familia) se encuentra en Wigand (1854), Kny (1869), Bauke (1876), Stephenson (1907), Schlumberger (1911), Goebel (1915-1918), Stokey (1930), Nayar y Kaur (1971), Atkinson (1965 y 1973), Huckaby y Raghavan (1981), Mukherjee y Sen (1986), Pérez-García (1989).

El trabajo más reciente sobre el estudio de la morfología del gametofito de la variedad típica de *L. quadripinnata* es el de Pérez-García *et al.* (1995), encontrando un patrón de germinación tipo *Cyathea* y desarrollo protálico tipo *Adiantum*, la fase adulta es de forma espatulada a cordiforme. Las diferencias entre las dos variedades radican en el tipo de protalo, en el número de células del anteridio y la ausencia de tricomas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material estudiado se recolectó en Administración Parque Nacional de la Isla Robinson Crusoe (Archipiélago Juan Fernández, Chile) (Ricci 0413, VINAD).

Las pínulas con esporangios maduros y cerrados se colocaron en sobres de papel, que fueron sellados para evitar contaminación y

permitir que los esporangios abrieran por desecación a temperatura ambiente. Para obtener las esporas, el contenido de los sobres se tamizó en una malla Mont-Inox. No. 200 de 0.074 mm de diámetro.

La siembra de las esporas se hizo en agar con medio nutritivo de Thompson (Klekowski 1969), en cajas de Petri de 5 cm de diámetro (25 cajas), una de las cuales se cubrió con papel estaño para probar fotoblastismo. La densidad media de los cultivos fue de 250 esporas x cm².

Los cultivos se mantuvieron en un régimen lumínico de 12 hr luz x 12 hr oscuridad (Lámpara Osram sl 75 w, luz de día), a una temperatura de 20-30°C (Pérez-García y Riba 1982). Las fotomicrografías se tomaron de plantas vivas con un microscopio estereoscópico y un microscopio óptico.

De manera adicional se sembraron esporas en densidades de 75 y 850 esporas x cm² para definir el papel de distintas densidades en el desarrollo de los gametofitos.

RESULTADOS

Esporas.- Las esporas de *L. quadripinnata* var. *contracta* son triletas, homospóricas, miden 70 x 75 µm, tienen un prominente cingulo ecuatorial y presentan ornamentación foveolada en la cara distal. la cara proximal es prominentemente tuberculada y verrugada, donde se localiza la cicatriz trirradiada (Gastony y Tryon 1976, Tryon y Lugardon 1991) son fotoblásticas positivas y no son clorofílicas (Fig. 1).

Germinación.- Las esporas de la variedad *contracta* inician su germinación en un período de 15 a 20 días después de la siembra, cuando aparece la primera célula rizoidal, larga, hialina y con algunos proplastos, así como la primera célula protálica, globosa y con numerosos cloroplastos, conservando la cubierta de la espo-

ra (Figs. 2-3). La germinación corresponde al tipo *Cyathea* de acuerdo a Nayar y Kaur (1971).

Al no germinar las esporas mantenidas en la oscuridad después de 100 días de sembradas, se consideró que son fotoblásticas positivas.

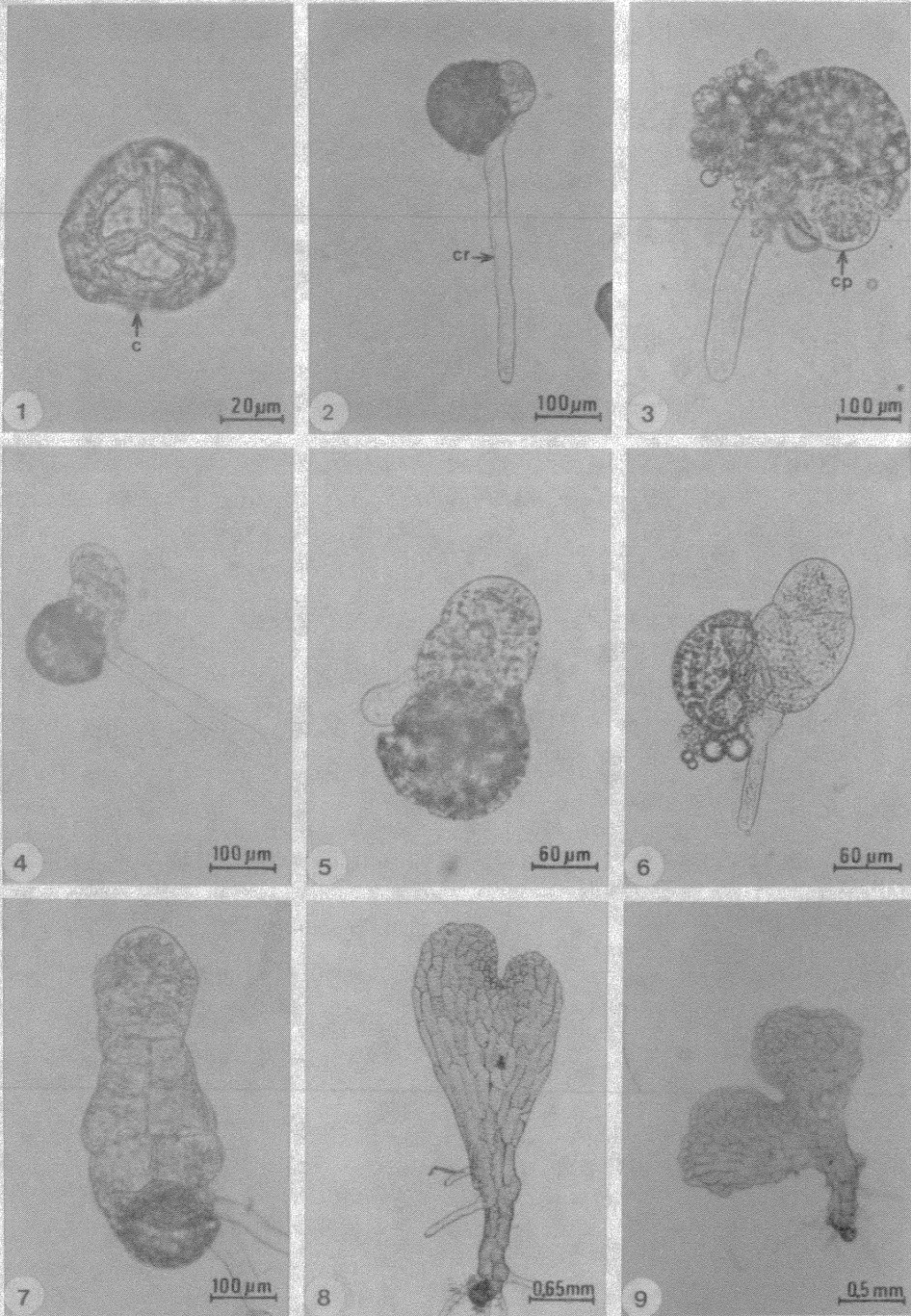
Fase filamentosa.- La fase filamentosa es corta, alrededor de los 20 días se observaron filamentos cortos de 3 células (Fig. 4), posteriormente la célula terminal del filamento sufre divisiones periclinales y anticlinales dando lugar a formas iniciales bidimensionales o laminares del gametofito (5-15 células) (Figs. 5-7).

Fase laminar.- Esta fase se presenta entre los 35-60 días,

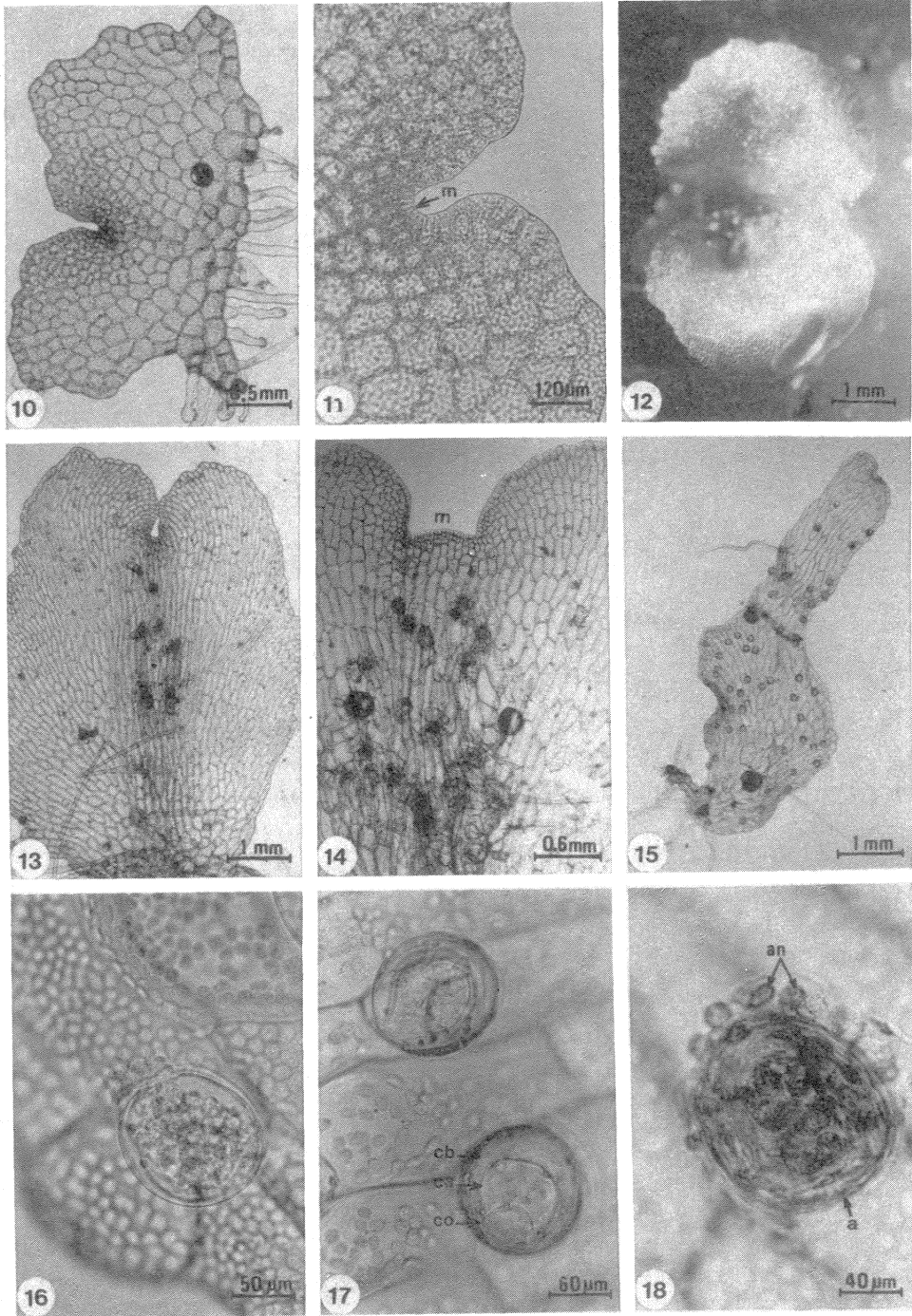
los gametofitos son de forma espatulada (Fig. 8), cordiforme a reniforme (Figs. 9-10), carecen de tricomas, presentan alas isodiamétricas con cojinete bien desarrollado y zona meristemática central (Fig. 11), rizoides de posición basal y conservan todavía la cubierta de la espóra, el desarrollo protálico corresponde al tipo *Adiantum* según Nayar y Kaur (1971).

Fase adulta.- Los gametofitos adultos se presentan entre los 80-160 días, son cordiformes ó reniformes (Fig. 12) y cordiforme-espatulados (Fig. 13), con un meristemo central (Fig. 14), alas isodiamétricas, cojinete bien definido, rizoides basales y glabros.

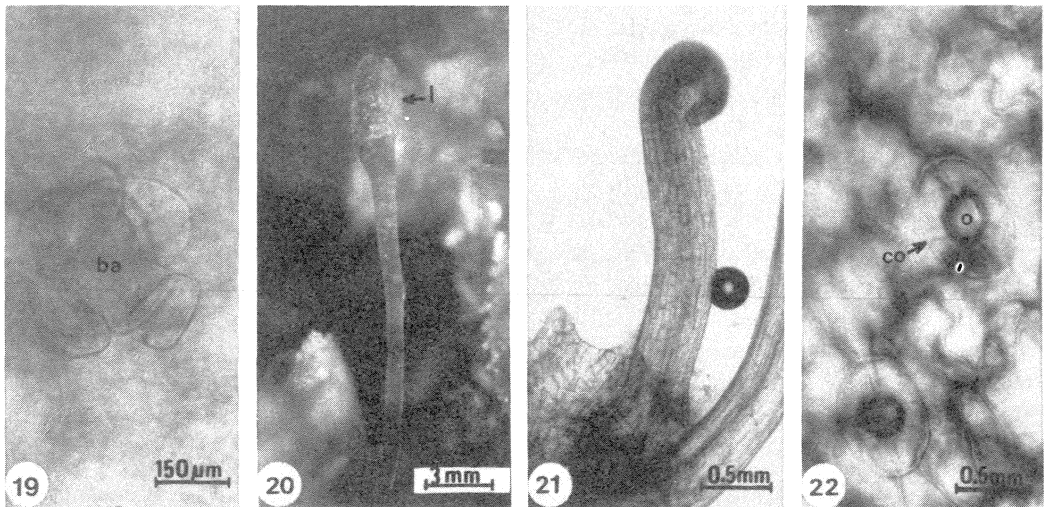
Gametangios.- Los gametangios son del tipo común de los helechos leptosporangiados, los anteridios se forman entre los 40-250 días, están distribuidos en la superficie ventral del gametofito (Fig. 15), son globosos (Fig. 16) con una célula basal, una media y una opercular (Fig. 17), los anterozoides se liberan por el desprendimiento de la célula opercular (Fig. 18). Los arquegonios se forman aproximadamente a los 80 días, se localizan en el cojinete (Fig. 19). Esta variedad es protándrica, aunque hay diferenciación de anteridios después de que aparecen los arquegonios.



Figs. 1-9. Gametofitos de *L. quadripinnata* var. *contracta*. 1. Espora. 2-3. Inicios de germinación con la célula rizoidal y protálica. 4-5. Fases filamentosas. 6. Inicios de fase laminar. 8. Gametofito espatulado. 9. Gametofito cordiforme. c: cingulo, cp: célula protálica, cr: célula rizoidal.



Figs. 10-18. Gametofitos de *L. quadripinnata* var. *contracta*. 10. Gametofito reniforme. 11 y 14. Zona meristemática central. 12-13. Gametofitos adultos. 15. Gametofito acintado anteridiado. 16-18. Anteridios. a: anteridio, ca: célula anular, an: anterozoide, cb: célula basal, co: célula opercular, m: meristemo central.



Figs. 19-22. Arquegonio, esporofitos y estomas de *L. quadripinnata* var. *contracta*. 19. Boca de arquegonio. 20-21. Primeras hojas del esporofito. 22. Estomas del esporofito, ba: boca del arquegonio, co: células oclusivas, lámina, p: pecíolo, o: ostíolo.

Esporofito: Las hojas jóvenes del esporofito de esta variedad se forman después de aproximadamente 150 días (Figs. 20, 21). En estados de desarrollo más avanzados (220 días) la lámina es subcordiforme, el pecíolo largo y terete, sin tricomas, las células de la epidermis de la cara adaxial y abaxial son de contorno sinuoso. Los estomas (Fig. 22) se presentan en la cara abaxial de la lámina, con dos células oclusivas y un poro, son del tipo anomocítico (Van Cotthem 1970, 1973).

DISCUSION

Al comparar los resultados entre la variedad típica (Pérez-García *et al.* 1995) con los obtenidos en este estudio se observa que el desarrollo gametofítico de *L. quadripinnata* var. *contracta* muestra algunas similitudes y diferencias con el de *L. quadripinnata* var. *quadripinnata*. Las similitudes son: a) esporas homospóricas, triletes con un cingulo ecuatorial. b) la germinación corresponde al tipo *Cyathea* dando origen a filamentos cortos de 2 a 6 células en ambas variedades. c) desarrollo protálico tipo *Adiantum*. d) carecen de tricomas. e) los arquegonios son del tipo

común de los leptosporangiados. f) ambas variedades son protándricas.

Las diferencias observadas entre ambas variedades son: a) las esporas de la variedad *contracta* son ligeramente más grandes (70 x 75 μm) que las de la variedad *quadripinnata* (50 x 60 μm). b) en *L. quadripinnata* var. *quadripinnata* a los 160 días se presentan gametofitos de forma espatulada, mientras que en la var. *contracta* a la misma edad se presentan diversas formas: cordiforme-reniforme a cordiforme-espatulada. c) en cuanto al número de células del anteridio, en la var. *quadripinnata* tienen 5 células (2 basales, 2 anulares y una pequeña opercular elíptica), mientras que la var. *contracta* presenta 3 células (una basal, una anular y una opercular), esta variación en el número de células del anteridio ya había sido señalada por Stockey (1930).

Como mencionamos anteriormente, en la var. *contracta* se presentan diversas formas laminares de gametofito. que lo atribuimos a la densidad de esporas presentes en los cultivos, en densidades bajas de esporas (75 x cm²), los gametofitos son largamente espatulados con un meristemo central y una ala ligeramente más desarrollada que la otra (Fig. 8). en densidades medias de esporas (250 x cm²) hay gametofitos cordiformes (Fig. 9), en algunos casos hay

gametofitos reniformes con un meristemo central y alas ampliamente desarrolladas (Fig. 10), mientras que en densidades altas de esporas (850 x cm²) se desarrollan formas largamente acintadas y con una gran cantidad de anteridios (Fig. 15). Esto ha sido citado por Dyer (1979), mencionando que variaciones en las densidades de esporas en los cultivos afectan la tasa de crecimiento, porcentaje de germinación, diversidad en forma de gametofitos (polimorfismo) y crecimientos anormales de los mismos.

Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen a ampliar el conocimiento de este género.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a miembros del Comité Editorial su revisión y sugerencias al manuscrito, así como a Marcia Ricci por el envío de esporas. A Ramón Riba y Luis Diego Gómez-Pignataro la revisión crítica del manuscrito. Se reconoce el apoyo financiero del CONACyT (Clave: 3903-N9401).

RESUMEN

Se describe el desarrollo y la morfología de los gametofitos de *L. quadripinnata* var. *contracta*. El material se recolectó en Administración Parque Nacional de la Isla Robinson Crusoe (Archipiélago Juan Fernández, Chile). Las esporas se sembraron en medio de Thompson en 25 cajas de Petri. El período de germinación de las esporas de esta variedad es de 15-20 días, presenta un patrón de germinación tipo *Cyathea* y un desarrollo protálico tipo *Adiantum*. Los gametangios son del tipo común de los helechos leptosporangiados, la variedad es protándrica. Se observa el esporofito después de tres meses de la siembra de esporas. Las diferencias encontradas entre las dos variedades, son el tamaño de las esporas, forma del protalo y número de células en el anteridio. Esto contribuye a ampliar el conocimiento de este género.

REFERENCIAS

- Atkinson, L.R. 1965. The gametophyte of *Cystodium*. Amer. Fern J. 55: 32-35.
- Atkinson, L.R. 1973. The gametophyte and family relationships. In: A. C. Jermy, J. A. Crabbe & B.A. Thomas (eds.) p. 73-90. The phylogeny and classification of the ferns. Academic, Londres.
- Bauke, H. 1876. Entwicklungsgeschichte des prothalliums bei den Cyatheaceen. Jahrb. Wiss. Bot. 10: 49-116.
- Dyer, A.F. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigation. p. 253-305. In A.F. Dyer (ed.) The experimental biology of ferns. Academic Press, Londres.
- Gastony, G.J. & R.M. Tryon. 1976. Spore morphology in the Cyatheaceae. 2. The genera *Lophosoria*, *Metaxya*, *Alsophila* and *Nephelea*. Amer. J. Bot. 63: 738-756.
- Goebel, K. 1915-1918. Organographie der Pflanzen-II. Aufl. Tiel ii. Gustav Fischer, Jena, Alemania.
- Huckaby, C.S. & V. Raghavan. 1981. Spore germination patterns in the ferns, *Cyathea* and *Dicksonia*. Ann. Bot. 47: 397-403.
- Klekowski, E.J. Jr. 1969. Reproductive biology of the Pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. J. Linn. Soc. 62: 361-377.
- Kny, L. 1869. Über Bau und Entwicklung des Fernantheridiums. Monats. Berlin Akad. Berlin.
- Mukherjee, K.S. & T. Sen. 1986. Gametophytes of some tree-ferns and their impact on phylogenetic relationships. Indian Fern J. 3: 70-81.
- Nayar, B.K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. Bot. Rev./#(Lancaster)37: 295-396.
- Pérez-García, B. & R. Riba. 1982. Germinación de esporas de Cyatheaceae bajo diversas temperaturas. Biotropica 14: 281-287.
- Pérez-García, B. 1989. Morfogénesis de gametofitos de Cyatheaceae (Pteridophyta: Filicales). Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Pérez-García, B. M.E. Fraile & A. Mendoza. 1995. Desarrollo del gametofito de *Lophosoria quadripinnata* (Filicales: Lophosoriaceae). Rev. Biol. Trop. 43: 55-60.
- Schlumberger, O. 1911. Familienmerkmale der Cyatheaceen und der Polypodiaceen und die Beziehung der Gattung *Woodisia* und verwandten Arten zu beiden Familien. Flora 102: 383-414.
- Stephenson, B.G. 1907. Young stages of *Dicksonia* and *Cyathea*. Trans. & Proc. New Zealand Inst. 40: 1-16.
- Stokey, A.G. 1930. Prothallia of the Cyatheaceae. Bot. Gaz. (Crawfordsville) 90: 1-45.
- Tryon, A.F. & B. Lugardon. 1991. Spores of the Pteridophytes: Surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies. Springer-Verlag, Nueva York 648 p.
- Van Cotthem, W.R.J. 1970. A classification of stomatal types. Bot. J. Linn. Soc. 63: 235-246.
- Van Cotthem, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematics. p. 59-71. In: The phylogeny and classification of the ferns. A.C. Jermy, J.A. Crabbe y B.A. Thomas (eds.). Academic. Londres.
- Wigand, A. 1854. Botanische Untersuchungen. Braunschweig.