

Desarrollo del gametofito de *Lophosoria quadripinnata* (Filicales: Lophosoriaceae)

Blanca Pérez-García, Ma. Eugenia Fraile y Aniceto Mendoza

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Biología, Ap. 55-535 C. P. 09340 México, D. F.

(Revisado II-XI-1994. Aceptado. 22-XI-1994)

Abstract: The dormancy of spores of *Lophosoria quadripinnata* ranges from 8 to 12 days; the germination pattern is of the *Cyathea*-type and the prothallial development is of the *Adiantum*-type. Five-celled antheridia were observed after 72 days and the basally-located archegonia appeared after 270-285 days. The adult gametophytes are isodiametrical, short-winged, spatulate or cordiform, without pluricellular hairs. No sporophytes were obtained after three years in culture. The main differences between our observations and those of other authors include the dormancy period, the type of prothallia, the number of cells in the antheridia and pluricellular hairs. In addition to the description of the gametophytes of *Lophosoria* found in the literature, our experiments *in vitro* contribute to extend the knowledge of this genus. Additional data which support the natural segregation of *Lophosoria* (Lophosoriaceae) from the rest of the Cyatheaceae, according to their gametophyte morphology, confirm the conclusions previously reached by other authors based on the characteristics of the sporophyte.

Key words: Gametophyte, *Lophosoria*, Lophosoriaceae, morphogenesis, spores.

Lophosoria quadripinnata (J. F. Gmel.) C. Chr. ha sido tratada con diferentes criterios taxonómicos por diversos autores quienes la ubican dentro de las Protocyatheaceae Bower 1963, Cyatheaceae (Christensen 1938, Copeland 1947, Holttum y Sen 1961, Holttum 1963 y Tryon 1970). Pichi-Sermolli (1970, 1977) y Tryon y Tryon (1982) la consideran dentro de una familia monogenérica, Lophosoriaceae. Gómez Pignataro (1976) divide Cyatheaceae en dos subfamilias, Dicksonieae (incluye *Cibotium*, *Culcita*, *Dicksonia* y *Thyrsopteris*) y Cyatheae, la que comprende los otros géneros (*Alsophila*, *Cnemidaria*, *Lophosoria*, *Nephelea* y *Sphaeropteris*) excepto *Metaxya*.

Esta especie está ampliamente distribuida en los trópicos americanos y se extiende hasta regiones húmedas y templadas de Sudamérica. En México crece desde el centro hasta el sur del país en bosques lluviosos de montaña y en bosques de pino-encino a 1050-3050 m s.l.m. (Tryon y Tryon 1982).

La espora con cíngulo y el número cromosómico $n=65$, sugiere relaciones filogenéticas más cercanas con las Dicksoniaceae. Sin embargo, por sus caracteres sorales hay mayor similitud con las Cyatheaceae (especialmente con *Sphaeropteris* subgénero *Sclephropteris* (Gastony y Tryon 1976).

La información acerca de los gametofitos de Cyatheaceae (incluyendo a *Lophosoria*) esta dispersa. Bauke (1876) hace una historia completa del gametofito de *Alsophila australis* R. Br., *Cyathea medullaris* (Forst.) Sw., y *Hemitelia spectabilis* Kze.

Wigand (1854) describe el anteridio de *Lophosoria* y observó pelos pluricelulares en el protalo, Kny (1869) estudia la germinación, desarrollo del protalo y anteridio de *Cibotium schiedei* Schldl. & Cham. Los gametangios masculinos de *Cyathea dealbata* (Forst.) Sw., *C. medullaris* (Forst.) Sw., *C. cunninghamii* Hk., *Dicksonia squarrosa* (Forst.) Sw., y *Hemitelia aspera* Fée fueron analizados por Stephenson 1907 y Schlumberger 1911.

El protalo de *Culcita macrocarpa* Presl y *Hemitelia Walkerae* (Hk.) Presl, es estudiado por Goebel (1915-1918), particularmente con referencia a la producción de los pelos pluricelulares y ramificación del protalo.

Stokey (1930) describe la morfología del gametofito de Cyatheae (15 especies incluyendo *L. quadripinnata*), Thyrsopteridae (*T. elegans*) y Dicksonieae (11 especies). Nayar y Kaur (1971) dan un panorama general acerca de los gametofitos de las Cyatheoideae.

Atkinson (1973) confirma la presencia de pelos pluricelulares en el cojinete de *Cyathea* y *Lophosoria* anteriormente citado por Stokey (1930), caracter compartido por *Cibotium*, *Cystodium* y *Dicksonia* de acuerdo a Atkinson (1965), mientras que *Culcita* y *Thyrsopteris* no presentan ningún tipo de pelos.

El desarrollo del gametofito de 15 especies de helechos arborescentes de la India ha sido estudiado por Mukherjee y Sen (1986). La morfogénesis de los gametofitos de 35 especies de Cyatheaceae neotropicales fue realizado por Pérez-García (1989).

MATERIAL Y METODOS

El material estudiado se recolectó en la Finca El Rosario, Cuetzalán, Puebla, México (Pérez-García et al. 995 (MEXU, UAMIZ), s/n 1° Enero, 1989 (MEXU, UAMIZ).

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.

Las esporas se obtuvieron tamizando el material de cada uno de los sobres a través de una malla Mont-Inox No. 200 con poros de 0.074 mm de diámetro para eliminar residuos.

Sin esterilización previa de sus superficies las esporas fueron sembradas en cajas de Petri estériles, de 5 cm de diámetro, en medio de Thompson, con pH 7 (Pérez-García y Fraile 1986). Se sembraron 50 cajas de las cuales 10 se mantuvieron en la oscuridad.

Las cajas se iluminaron con tubos de luz de día Solar 75 watts/ t 38/ A1-D, slimline 75 v, con un fotoperíodo de 12 hrs (Tork Time Controls) y la temperatura se mantuvo entre 25-30°C.

Las fotografías y los dibujos se tomaron de material vivo con un fotomicroscopio Carl Zeiss y con un microscopio American Optical con cámara lúcida adaptada. La fotografía de barrido (SEM) de la espora fue tomada con un microscopio Jeol JSM-T20.

RESULTADOS

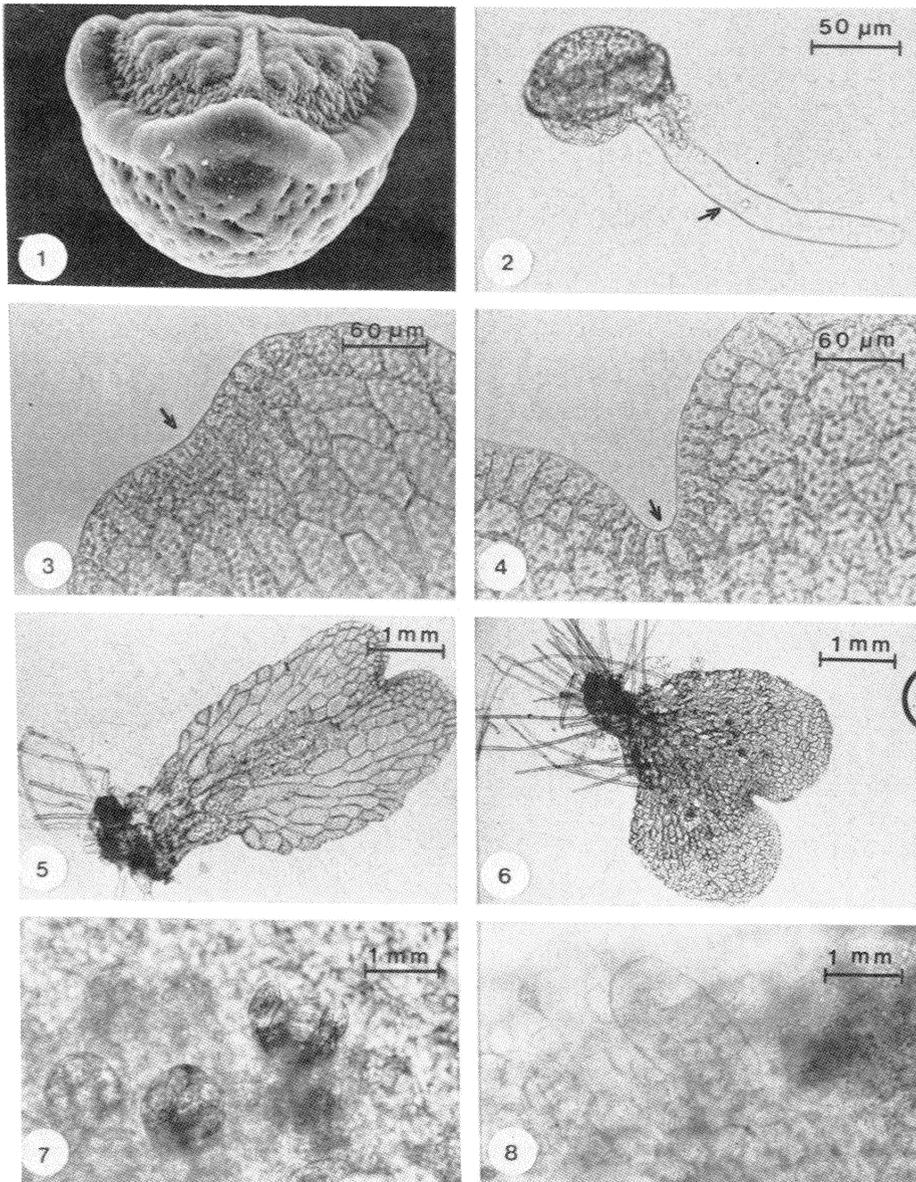
Las esporas de *L. quadripinnata* son triletes, miden 56 x 50 µm (medidas en agua con glicerina 1:1); tienen un prominente cíngulo ecuatorial (Figs. 1, 9) y presentan ornamentación foveolada en la cara distal, prominentemente tuberculada y verrugada en la cara proximal, donde se localiza la cicatriz triirradiada (Gastony y Tryon 1976, Tryon y Lugardon 1991), son fotoblásticas positivas y no clorofílicas.

El período de latencia es de ocho a doce días, la germinación es ecuatorial del tipo *Cyathea* (Nayar y Kaur 1971). La primera división se presenta por la formación de una pared que sigue al eje polar de la espora, originando a la célula rizoidal (Fig. 2) que crece a lo largo del plano ecuatorial de la espora y la primera célula protálica, la cual sufre una segunda división perpendicular a la primera, las subsecuentes divisiones son paralelas a ésta última originándose a los 11 días un filamento germinativo de dos a seis células (Figs. 10, 11), que crecen en el sentido del eje polar.

Antes de los 21 días la célula terminal del filamento se divide por una pared paralela al eje del filamento y ésta división es seguida por otra en un plano oblicuo originando una célula terminal obcónica.

Las subsecuentes divisiones en planos paralelos a las paredes laterales de la célula obcónica, originan a los 21 días un protalo laminar de una célula de grosor (Figs. 12, 13). La célula obcónica, que es la meristemática inicial, sufre divisiones anticlinales originando células hijas que van a formar un meristemo pluricelular (Fig. 3) de posición central a los 36 días, desarrollando un protalo de forma espatulada a cordiforme con alas cortas (Figs. 5, 6).

El cojinete se diferencia de las células meristemáticas ubicadas cerca de la muesca, tiene varias células de grosor y una dirección anteroposterior. A los 156 días los gametofitos espatulados todavía presentan una zona meristemática pluricelular apical funcional (Figs. 4, 15).



Figs. 1-8. Gametofitos de *L. quadripinnata*. 1. Espora 1000X; 2. Fase inicial del desarrollo con la célula rizoidal; 3. Zona meristemática inicial; 4. Zona meristemática adulta; 5. Gametofito espatulado vegetativo; 6. Gametofito cordiforme adulto; 7. Anteridios; 8. Cuello de arquegonio.

Los anteridios se diferencian a los 72 días, próximos a la zona meristemática y cercanos al cojinete en la superficie ventral, constan de cinco células: dos basales, dos anulares y una opercular elíptica pequeña (Figs. 7, 16).

A los 270-285 días se observaron cuellos de arquegonios notablemente largos (Fig. 8), orientados hacia la parte basal del gametofito así como numerosas bocas de arquegonios con cuatro células (Fig. 17).

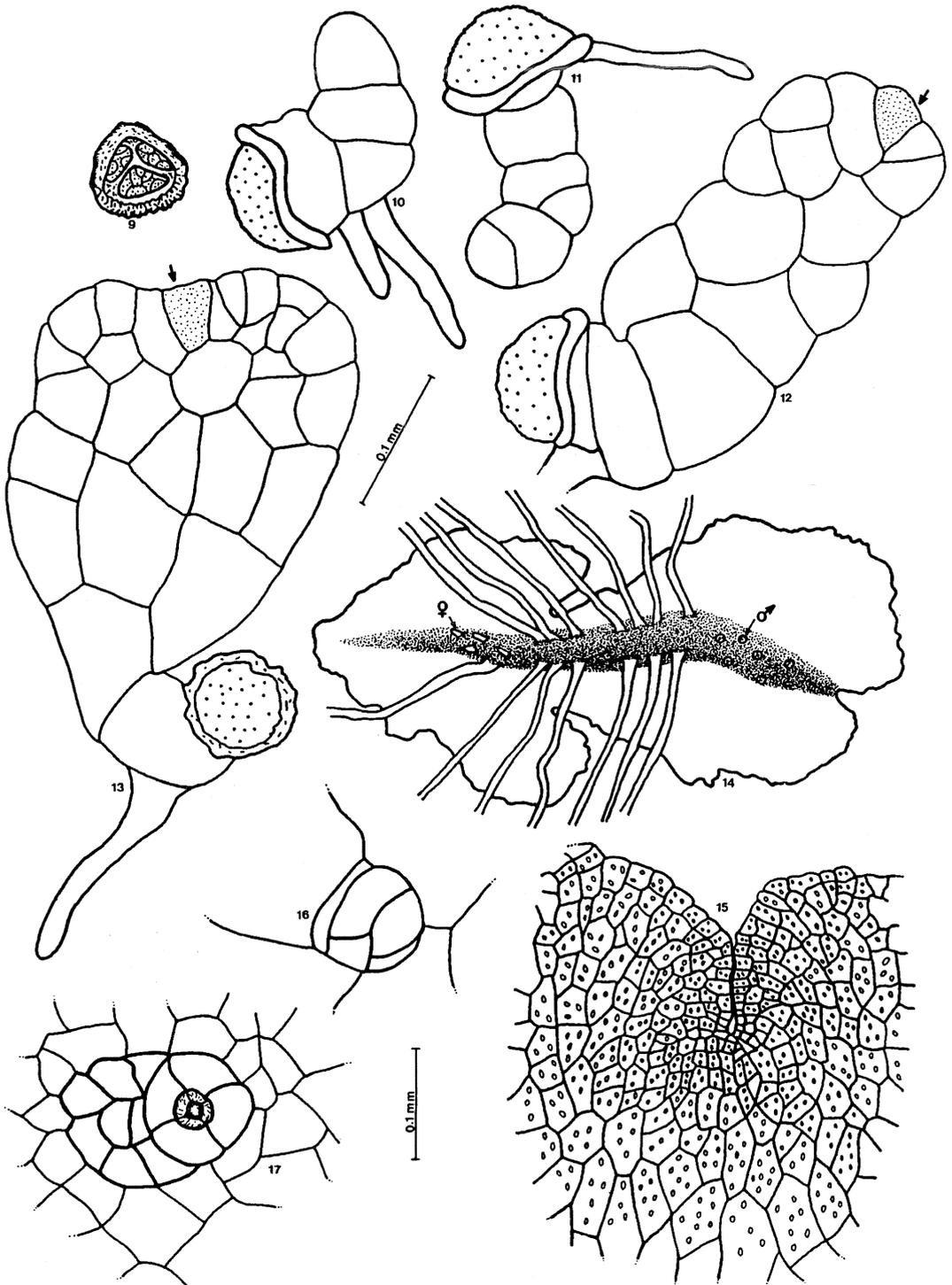


Fig. 9-17. Gametofitos de *L. quadripinnata*. 9. Espora; 10-11. Fases filamentosas de cuatro a seis células a los 11 días; 12-13. Gametofitos bidimensionales, se observa la célula meristemática obcónica; 14. Gametofito adulto espatulado con gametangios; 15. Zona meristemática adulta; 16. Anteridio de cinco células; 17. Boca de arquegonio.

Los gametofitos adultos de 270-285 días son claramente espatulados a cordiformes (Fig. 14), con alas cortas más o menos isodiamétricas, carecen de pelos pluricelulares en el cojinete y tienen numerosos rizoides unicelulares, hialinos. Los gametofitos son bisexuados y protándricos.

Después de tres años de cultivo, no hay evidencias de fecundación.

DISCUSION

Varios autores han estudiado el desarrollo gametofítico de *L. quadripinnata*, Stokey (1930) estudió 15 especies de los géneros *Alsophila*, *Cyathea* y *Lophosoria*; sin embargo, esta autora utilizó para su estudio esporas provenientes de diversas fuentes como herbarios y jardines botánicos, pero se carece de información con respecto a los ejemplares de respaldo. Las condiciones de laboratorio utilizadas por Stokey, son diferentes en cuanto a luz (luz natural y difusa proveniente de ventanas), pH= 4.6 y medios de cultivo diversos (agua, turba, suelo mezclado con arena), temperatura 17-24°C, (véase Pérez-García y Riba 1982).

Stokey (1930) no menciona el tiempo de latencia para esta especie, observando en nuestro estudio que va de 8 a 12 días lo que concuerda para otras especies de helechos arborescentes del Viejo Mundo (Huckaby y Raghavan 1981, Mukherjee y Sen 1986) y del Nuevo Mundo (Pérez-García 1989).

El patrón de germinación observado en *L. quadripinnata* corresponde al tipo *Cyathea* y concuerda con lo descrito por Stokey (1930) y este mismo patrón de germinación es citado para *Dicksonia antarctica* Lab. por Huckaby y Raghavan (1981); estos mismos autores establecen un patrón de germinación del tipo *Vittaria* para *Cyathea australis* (R. Br.) Domin y *C. cooperi* F. v. Muell. (diferiendo de Stokey 1930), así como para *Dicksonia sellowiana* (Presl) Hook. (Pérez-García y Fraile 1986).

Los anteridios están constituidos por 5 células usualmente asimétricas y cuneiforme irregulares; Stokey (1930) señala que existe variación en el número de células de los anteridios de esta especie, y que tienen de 5 a 7 células, además de ser más largos e irregulares; en comparación con los anteridios de otras *Cyatheaceae* la variación, en tamaño y simetría es notable.

A pesar del largo tiempo de cultivo (3 años) no se observó el desarrollo de esporofitos, ni crecimientos apogámicos, como cita Stokey para esta especie y otras de la familia *Cyatheaceae*. No observamos pelos pluricelulares de ningún tipo durante el desarrollo protálico como lo citan Wigand (1854), Stokey (1930) y Atkinson (1973). Stokey (1930) menciona que son "pelos multicelulares de aparición tardía, cortos y uniseriados, localizados en ambas superficies, en o cerca del cojinete pero no en el margen y miden hasta 2 mm de longitud"; consideramos que se trata de crecimientos protálicos vegetativos originados por las condiciones heterogéneas de sus cultivos o bien posiblemente por la alta densidad de esporas sembradas, hecho que hemos observado en otras especies (Dyer 1979, Pérez-García 1989).

Los resultados obtenidos en este trabajo apoyan la separación del género *Lophosoria* en una familia independiente (*Lophosoriaceae*) de las *Cyatheaceae*, como lo han señalado Pichi-Sermolli (1970, 1977) y Tryon y Tryon (1982) con base en los caracteres del esporofito.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los árbitros anónimos la revisión y sugerencias al manuscrito, el trabajo fotográfico del microscopio electrónico a Tiburcio Lázey y a Jorge Lodigiani el apoyo fotográfico. Asimismo expresamos nuestro agradecimiento a Ramón Riba por la revisión crítica del manuscrito, al Museo Nacional de Costa Rica y a Luis Diego Gómez Pignataro, las facilidades y el apoyo brindado para la realización de este trabajo como parte de la tesis de Doctorado del primer autor. Se reconoce el apoyo financiero otorgado por la OEA mediante la Beca PRA-No. 77666.

RESUMEN

En este trabajo se describe el desarrollo del gametofito de *L. quadripinnata*, se compara con los resultados obtenidos por otros autores. El período de latencia de esta especie es de ocho a doce días; presenta un patrón de germinación del tipo *Cyathea* y un desarrollo protálico del tipo *Adiantum*. Los anteridios se diferenciaron a los 72 días y constan de cinco células, y los arquegonios se diferenciaron a los 270-

285 días, localizándose en la parte basal del gametofito. En la fase adulta, el gametofito es espatulado a cordiforme con alas cortas isodiamétricas y carece de pelos pluricelulares en el cojinete. No se obtuvieron esporofitos después de tres años de cultivo. Las diferencias básicas encontradas por nosotros respecto a los datos aportados por otros autores, radican en el tipo de protalo, el número de células del anteridio y los pelos pluricelulares, que no observamos. En adición a la descripción del gametofito de *Lophosoria* encontrada en la literatura, nuestros experimentos, *in vitro* contribuyen a ampliar el conocimiento de este género. Este trabajo aporta datos que apoyan la separación natural de *Lophosoria* (Lophosoriaceae) de las Cyatheaceae con base en la morfología del gametofito, como lo han señalado varios autores con base en las características del esporofito.

REFERENCIAS

- Atkinson, L.R. 1965. The gametophyte of *Cystodium*. Amer. Fern J. 55:32-35.
- Atkinson, L.R. 1973. The gametophyte and family relationship. p. 73-93. In A.C. Jermy, J.A. Crabbe & B.A. Thomas(eds.) The phylogeny and classification of the ferns. Academic, Londres.
- Bauke, H. 1876. Entwicklungsgeschichte des prothalliums bei den Cyatheaceen. Jahrb. Wiss. Bot. 10:49-116.
- Bower, F.O. 1963. The fern (Filicales), vol. 2. Repr. ed. Today & Tomorrow's Book Agency. Karol Bagh, New Delhi, p. 282-292.
- Copeland, E.B. 1947. Genera Filicum. Chronica Botanica, Waltham, Massachusetts. 247 p.
- Christensen, C. 1938. Filicinae In F. Verdoorn (ed.) Manual of Pteridology. Martinus Nijhoff, La Haya, Holanda.
- 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, Londres.
- Gastony, G.J. & R.M. Tryon. 1976. Spore morphology in the Cyatheaceae. 2. The genera *Lophosoria*, *Metaxya*, *Alsophila* and *Nephelea*. Amer. J. Bot. 63:738-758.
- Goebel, K. 1915-1918. Organographie der Pflanzen-II. Aufl. Tiel ii. Gustav Fischer, Jena, Alemania.
- Gómez Pignataro, L.D. 1976. Contribuciones a la pteridología centroamericana. I. Enumeratio Filicum Nicaraguensium. Brenesia 8:41-57.
- Holtum, R.E. 1963. Cyatheaceae. Flora Malesiana Ser. II, 1: 65-176.
- Holtum, R.E. & U. Sen. 1961. Morphology and classification of the tree-ferns. Phytomorphology 11:406-420.
- Huckaby, C.S. & V. Raghavan. 1981. Spore germination patterns in the ferns, *Cyathea* and *Dicksonia*. Ann. Bot. 47:397-403.
- Kny, L. 1869. Über Bau und Entwicklung des Fernantheridiums. Monats. Berlin Akadem., Berlín.
- 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. 1989. Morfogénesis de gametofitos de Cyatheaceae (Pterophyta: Filicales). Tesis Doctoral, Fac. Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 224 p.
- Pérez-García, B. & M.E. Fraile. 1986. El gametofito de *Dicksonia sellowiana* (Presl) Hooker. Biótica 11:281-287.
- Pérez-García, B. & R. Riba. 1982. Germinación de esporas de Cyatheaceae bajo diversas temperaturas. Biotropica 14:281-287.
- Pichi-Sermolli, R.E.G. 1970. Fragmenta Pteridologiae II. Webbia 24:699-722.
- Pichi-Sermolli, R.E.G. 1977. Tentamen Pteridophytorum genera in taxonomicum ordinem redigendi. Webbia 31:313-512.
- Schlumberger, O. 1911. Familienmerkmale der Cyatheaceen und der Polypodiaceen und die Beziehung der Gattung *Woodsia* 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. 1990. Spores of the Pteridophytes: Surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies. Springer-Verlag, Nueva York. 648 p.
- Tryon, R. 1970. The classification of the Cyatheaceae. Contr. Gray Herb. 200:3-53.
- Tryon, R.M. & A.F. Tryon. 1982. Ferns and allied plants with special reference to tropical America. Springer-Verlag, Nueva York. 857 p.
- Wigand, A. 1854. Botanische Untersuchungen. Braunschweig.